

Zur Struktur und Synthese
von Anthrachinon-Glycosiden
aus Rheum und Senna

München 1964

Edith Müller



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548301_0057

Zur Struktur und Synthese von Anthrachinon-Glycosiden aus
Rheum und Senna

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Edith Müller
aus
Mainz

Juni 1964



Berichterstatter: Professor Dr. L. Hörhammer

Tag der mündlichen Prüfung: 22.7.1964

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
E I N L E I T U N G	1
A L L G E M E I N E R T E I L	2
I. Synthese und Zuckerstellung von Anthrachinon-Glucosiden aus Rhizoma Rhei	2
A. Bestimmung der Zuckerstellung beim Aloe-emodin-mono- β -D-glucosid	2
1. Synthese des Aloe-emodin-monoglucosids	6
2. Methylierung des Aloe-emodin-glucosids	10
3. Oxydation zum Methyl-rhein	14
4. Identifizierung mit 1-Methyl-rhein	15
B. Bestimmung der Zuckerstellung beim Chrysophanol-mono- β -D-glucosid	18
1. Synthese des Chrysophanol-monoglucosids	20
2. Methylierung des Chrysophanol-glucosids	21
3. Oxydation zum Methyl-rhein	23
C. Vergleichende Untersuchung über die Stellung der Glucose beim Emodin- und Physcion-monoglucosid	25
1. Methylierung von Emodin-glucosid	27
2. Vergleich mit dem Dimethyläther aus Physcion-glucosid	27
II. Isolierung von Monoglucosiden aus Folia Sennae	29
1. Eigene Untersuchungen	30
2. Isolierung von Aloe-emodin-8-glucosid	30
3. Isolierung von Emodin-glucosid	31
4. Isolierung und Untersuchung der im UV-Licht blau fluoreszierenden Substanz	33
E X P E R I M E N T E L L E R T E I L	35
1. Chromatographie	35
2. Herstellung von α -Acetobrom-d-glucose	36
3. Schmelzpunkte	36
4. Mikroanalysen	36
5. IR-Spektren	37

A. Isolierung der Anthrachinon-Testsubstanzen aus Rhiz. Rhei	37
1. Reindarstellung	37
2. Plattenchromatographische Überprüfung	38
B. Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-mono- β -D-glucosid-(8) (Aloe-emodin-8-glucosid) und Überführung in 8-Hydroxy-1-methoxy-anthrachinon-carbonsäure-(3) (1-Methyl-rhein)	39
1. Darstellung des Glucosids	39
2. Herstellung von 8-Hydroxy-1-methoxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon (1-Methyl-aloe-emodin) und 8-Hydroxy-1-methoxy-3-methoxymethyl-anthrachinon (1,11-Dimethyl-aloe-emodin)	41
3. Oxydation zum 8-Hydroxy-1-methoxy-anthrachinon-carbonsäure-(3) (1-Methyl-rhein)	42
4. Herstellung der Aloe-emodin-methyläther-Vergleichssubstanzen	43
5. Plattenchromatographische Überprüfung	46
C. Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-methyl-anthrachinon-mono- β -D-glucosid-(1) (Chrysophanol-1-glucosid) und Überführung in 1-Hydroxy-8-methoxy-anthrachinon-carbonsäure-(3) (8-Methyl-rhein)	47
1. Darstellung des Glucosids	47
2. Methylierung und Verseifung zum 8-Methyl-chrysophanol	48
3. Oxydation des 8-Methyl-chrysophanols zum 8-Methyl-rhein	49
4. Plattenchromatographische Überprüfung	50
D. Darstellung des Emodin-1,6-dimethyläthers	50
1. Methylierung des Emodin-glucosids und anschließende Abspaltung des Zuckers	50
2. Trennung von Physcion und Emodin-1,6-dimethyläther	51
3. Plattenchromatographische Überprüfung	51
E. Gewinnung von Aloe-emodin-8-glucosid und Emodin-glucosid aus Folia Sennae	52

1. Mazeration der Droge	52
2. Auftrennung des Extraktes	52
3. Plattenchromatographische Überprüfung	55
L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	57

E I N L E I T U N G

In den letzten Jahren sind in unserem Arbeitskreis aus dem als Abführdroge bedeutsamen Rhabarberrhizom eine Reihe von 1,8-Dihydroxy-anthrachinon-glycosiden teilweise synthetisiert worden. Für die meisten dieser Glycoside ist aber Zuckerart und Zuckerstellung und damit die exakte Struktur noch nicht endgültig bestimmt. Die erste Aufgabe sollte sein, die noch wenig bearbeiteten Chrysophanol- und Aloe-emodin-glycoside durch Synthese und Überführung in geeignete Derivate strukturell aufzuklären. Da in der Literatur über das Vorliegen von ähnlichen Anthrachinon-glycosiden auch aus Folia Sennae, ebenfalls einem sehr häufig gebrauchten Laxans, berichtet wurde, sollten diese in die Untersuchung mit einbezogen und nach Isolierung näher untersucht werden. Damit wäre auf dem Gebiet der Rheum- und Senna-glycoside hinsichtlich der Isolierung, Struktur und Synthese ein gewisser Abschluß erreicht und die Grundlage für nunmehr folgende pharmakologische Untersuchungen gegeben.

ALLGEMEINER TEIL

I. Synthese und Zuckerstellung von Anthrachinon-Glucosiden aus Rhizoma Rhei

A. Bestimmung der Zuckerstellung beim Aloe-emodin-mono- β -D- glucosid

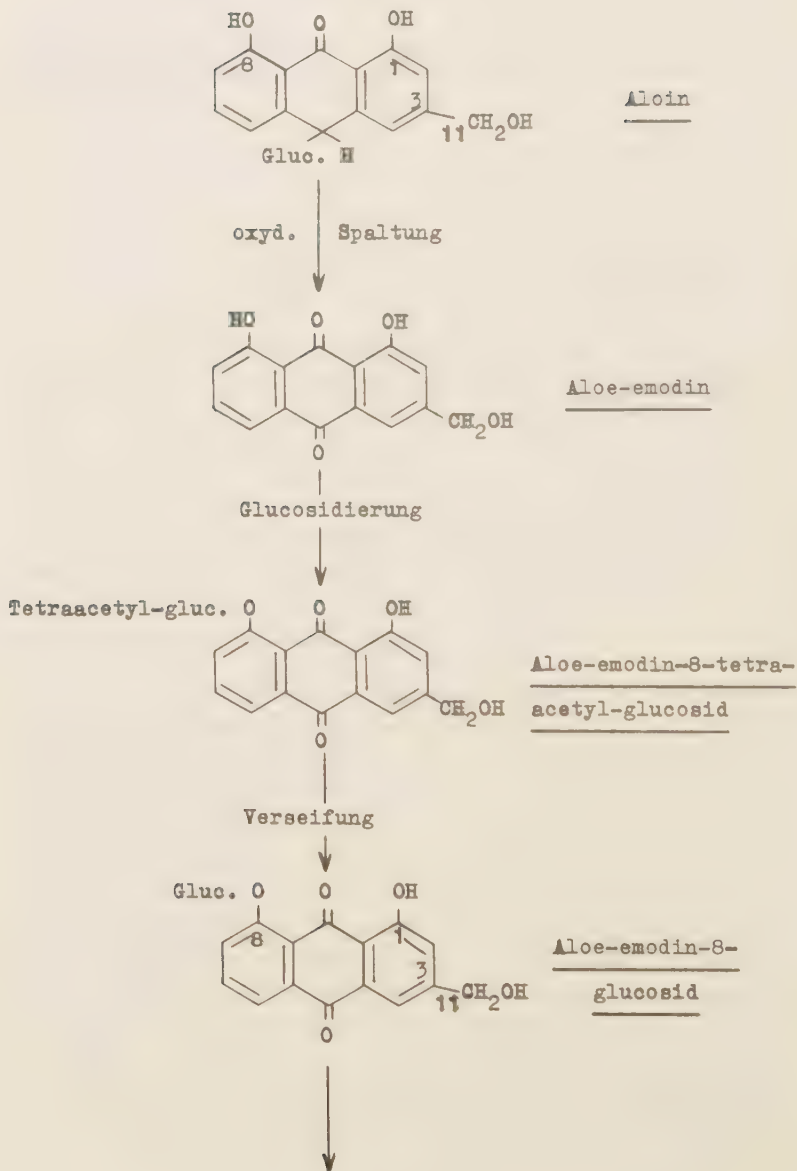
Aloe-emodin, ein 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthra-
chinon findet sich als Glucosid und als Aglucon beson-
ders in Aloe-, Cassia-, Rheum- und Rhamnus-Arten. In
freier Form wurde es häufig isoliert. Seine Konstitu-
tion konnte bereits 1911 von OESTERLE¹⁾ ermittelt und
1932 von MITTER²⁾ durch Synthese bestätigt werden.

Nachdem es LEUE³⁾ gelungen war, aus Rhiz. Rhei ein Mono-
glucosid des Aloe-emodins zu isolieren, bedurfte noch die
Zuckerstellung der Aufklärung. Da LEUE bewiesen hatte,
daß das von ihm hergestellte Aloe-emodin-glucosid mit
dem isolierten übereinstimmte, war es möglich, die Unter-
suchung an synthetischem Glucosid vorzunehmen.

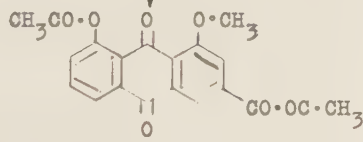
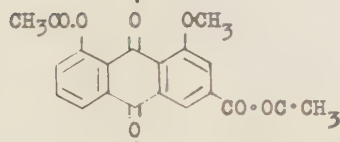
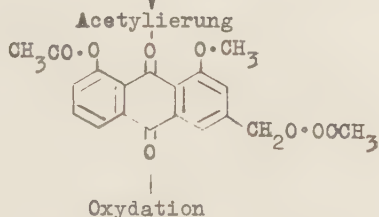
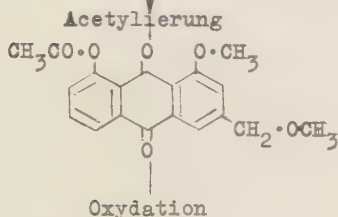
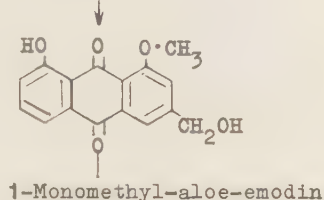
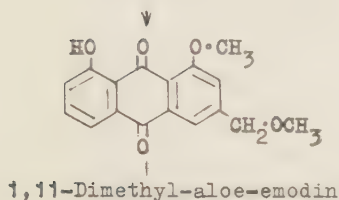
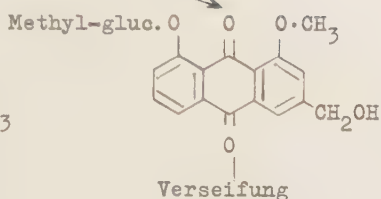
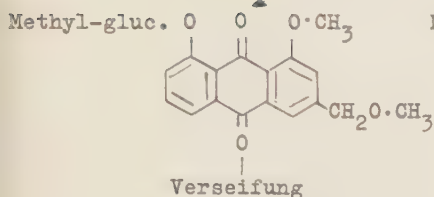
Von den drei theoretisch möglichen Verknüpfungsstellen
der Glucose, den phenolischen Hydroxyl-Gruppen am C-Atom 1
und 8 des Anthrachinonkerns, sowie der primären alkoholi-
schen Hydroxyl-Gruppe der Seitenkette am C-Atom 11, konn-
te die letzte Möglichkeit durch die Übereinstimmung von
synthetischem und natürlichem Aloe-emodin-glucosid ausge-
schlossen werden. Die nicht acide primäre alkoholische
Gruppe reagiert unter den bei der Glycosid-Synthese üb-
lichen Reaktionsbedingungen nicht. Um zwischen den zwei
verbleibenden Möglichkeiten zu entscheiden, wurde das
Glucosid methyliert. Nach anschließender Hydrolyse er-
folgte die Auftrennung des entstandenen Methyläther-Ge-
misches und die Oxydation der Hydroxymethyl-Seitenkette
des 1- oder 8-Monomethyl- sowie des 1,11- oder 8,11-Di-

methyl-aloe-emodins zur Carboxyl-Gruppe. Das erhaltene Methyl-rhein war mit dem vollsynthetisch dargestellten 1-Methyl-rhein von STOLL⁴⁾ und dem ebenfalls auf diesem Weg gewonnenen 8-Methyl-rhein von BELLAART⁵⁾ zu vergleichen. Der Gang der Synthese ist in Schema 1 skizziert:

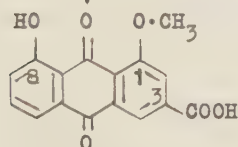
S c h e m a 1



Methylierung



Verseifung



1. Synthese des Aloe-emodin-monoglucosids

a) Darstellung des Aloe-emodins

Das Verfahren beruht auf der oxydativen Spaltung des Aloins durch Eisen-III-chlorid nach einer von CAHN⁶⁾ und später wieder von STOLL⁷⁾ beschriebenen Methode. Das Handelsprodukt Aloin (Brit.Pharm.) mußte zweimal aus heißem Methanol umkristallisiert werden, da es zu ca. 50% verunreinigt war. Anschließend wurde fünf Stunden mit Eisen-III-chlorid in wässrigem Milieu gekocht und dann der Rückstand mit siedendem Toluol extrahiert.

Das von LEUE³⁾ angewendete Verfahren, das sich an die qualitative Aloin-Bestimmungsmethode von AUTERHOFF⁸⁾ anlehnt und die Spaltung in Aceton/Wasser-Gemisch durchführt, war zu unrentabel, da die Ausbeuten hierbei weit unter denen des obigen Verfahrens lagen. Außerdem konnten wir kein reineres Produkt erhalten. Chromatographisch ließ sich beide Male unterhalb des im UV-Licht ocker fluoreszierenden Aloe-emodins ein violetter Fleck feststellen, der umso stärker wurde, je später die Substanz aus der Mutterlauge auskristallisierte. Alle Versuche, diese Verunreinigung durch Umkristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln oder durch Säulenchromatographie abzutrennen, schlugen fehl. AWE⁹⁾ gibt an, Aloe-emodin durch Sublimation gereinigt zu haben. Diese Methode führte bei uns ebenfalls nicht zum Erfolg. Wir verarbeiteten daher das erhaltene Aloe-emodin mit einem Schmelzpunkt von 209° ohne weitere Reinigung.

b) Darstellung des Aloe-emodin-tetraacetylglucosids

Das Verfahren zur Darstellung von Glycosiden mit Acetobromzuckern in wasserfreiem Medium unter Zusatz von Silberoxyd oder Silbercarbonat als Katalysator wurde von FISCHER¹⁰⁾ entwickelt. TAKAHASHI¹¹⁾ verwendete es

erstmalig zur Synthese von Anthrachinon-Glycosiden.

In Anlehnung an die von FUJISE¹²⁾ für die Glucosidierung von Flavonon abgewandelte Methode verknüpften wir Aloe-emodin mit α -Acetobrom-d-glucose in Chinolin bei Gegenwart von Silberoxyd. Das Ende der Reaktion war, wie chromatographisch feststellbar, bei einem Glucosid-Aglucon-Verhältnis von ungefähr 7:3 erreicht. Versuche, dieses noch weiter in Richtung des Reaktionsproduktes zu verschieben, verliefen negativ. Die Glucosidierung nach MÜHLEMAN¹³⁾ in Pyridin mit Silberoxyd und Magnesiumsulfat als Katalysatoren, sowie die Verknüpfung in wässrigem Milieu mit Natronlauge zeigten bedeutend schlechtere Ergebnisse.

Als Reaktionsprodukt war ein Aloe-emodin-monotetraacetylglucosid entstanden. Die Bildung eines Diglucosids war durch die Wasserstoffbrückenbindung der zweiten phenolischen Hydroxyl-Gruppe zur Carbonyl-Gruppe ausgeschlossen. Vermutlich infolge der durch die Hydroxymethyl-Gruppe an C₃ bedingten guten Löslichkeit in der Mutterlauge war ein kristallines Tetraacetylglucosid nicht zu erhalten. Trotz mehrfacher Versuche mißlang auch die Acetylierung des Rohproduktes zur kristallinen Hexaacetyl-Verbindung. Daher trennten wir das Aloe-emodin-tetraacetylglucosid aus der Mutterlauge nicht ab, sondern verarbeiteten die gesamte Reaktionsmischung.

c) Hydrolyse zum Aloe-emodin-glucosid

Das von Silbersalz und Chinolin befreite, eingeengte Reaktionsgemisch wurde in Methanol aufgenommen und in der Siedehitze innerhalb von drei Minuten mit Natronlauge verseift. Trotz dieser schonenden Behandlung waren die Acetylreste quantitativ abgespalten worden, ohne daß es gleichzeitig zu einer Aufspaltung des Glucosids gekommen war.

Nun mußte ein geeignetes Lösungsmittel gefunden werden, mit dessen Hilfe das sehr hydrophile Glucosid von seinen

Begleitstoffen aus der wässrigen Mutterlauge abgetrennt werden konnte. Die herkömmlichen hydrophilen Lösungsmittel Äthylacetat, Amylalkohol, Butanol etc. versagten, da die braunen Verunreinigungen mit herausgelöst wurden. Eine anschließende Reinigung über eine Polyamid- oder Kieselgel-Säule gelang nicht.

Erst die Anwendung von Ketonen führte zum Erfolg. Zuerst wurde mit Methylisopropylketon alles nicht umgesetzte Aloe-emodin und Spuren des Glucosids extrahiert. Die Hauptmenge des Glucosids wurde mit Äthylmethylketon herausgelöst. Die Anwendung dieses zweiten hydrophileren Ketons ermöglichte eine schnellere und fast quantitative Extraktion. Der nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wurde aus Methanol umkristallisiert. Wir erhielten orangerote, feine Kristallnadeln, die bei $239.5 - 240^{\circ}$ schmolzen. Die Ausbeute betrug 7.6%. Zusätzlich gewannen wir 6.7% Glucosidmaterial mit Schmelzpunkten zwischen $220 - 230^{\circ}$.

- d) Vergleich des synthetischen und isolierten Glucosids
Chromatographisch liegt die Substanz auf gleicher Höhe mit dem aus Rhiz. Rhei isolierten Aloe-emodin-glucosid. Ein ebenfalls übereinstimmendes Bild ergaben die Flecke des Hydrolysenproduktes und des authentischen Aloe-emodins. Der Mischschmelzpunkt sowohl mit natürlichem als auch mit dem von LEUE³⁾ synthetisierten Glucosid, der für seine Substanz einen Schmelzpunkt von 238° angibt, zeigten keine Depression.

Bei der erschöpfenden Extraktion des synthetisierten Glucosids aus der Mutterlauge kristallisierte aus den letzten Fraktionen ein Produkt, das hellgelb gefärbt war, einen niedrigeren Schmelzpunkt hatte und plattenchromatographisch nicht rein war. Auf Kieselgel-Platten in Benzol/Methanol (9:1), nicht dagegen auf Polyamid in Methanol erschien oberhalb des Glucosidflecks ein schwacher Ring,

der gegen Ende der Extraktion stärker wurde. Die gleiche Verunreinigung zeigte sich in sehr geringer Konzentration bei dem daraufhin untersuchten, isolierten Aloe-emodin-glucosid. Nach unserer Vermutung handelte es sich hier um das isomere Aloe-emodin-1-glucosid. In Abb. 1 und 2 sind die Chromatogrammbilder wiedergegeben.

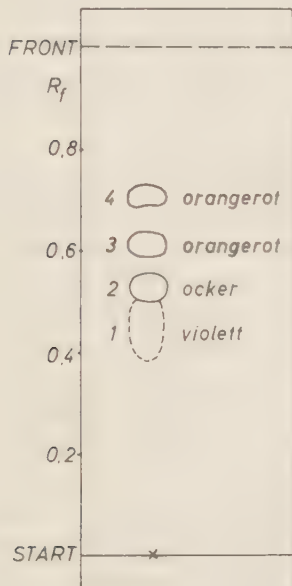


Abb. 1

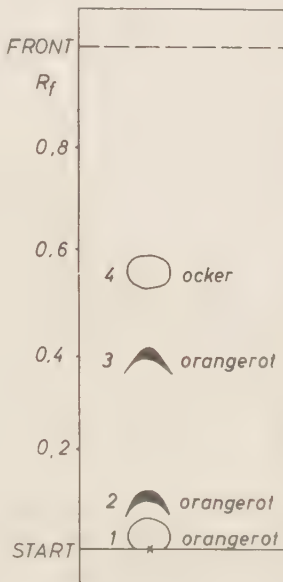


Abb. 2

Dünnschichtchromatographie der Aloe-emodin-glucosid-Synthese

Adsorbens: Polyamid

Laufmittel: Methanol

1. Verunreinigung des Aloe-emodins
2. Aloe-emodin
3. Aloe-emodin-glucosid
4. Aloe-emodin-tetraacetyl-glucosid

Adsorbens: Kieselgel G

Laufmittel: Benzol/Methanol (9:1)

1. Aloe-emodin-8-glucosid
2. Aloe-emodin-1-glucosid
3. Aloe-emodin-tetraacetyl-glucosid
4. Aloe-emodin

2. Methylierung des Aloe-emodin-glucosids

a) Methylierung

Die zwei gebräuchlichsten Methylierungsmittel sind Diazomethan und Dimethylsulfat. Bei unseren Versuchen erwies sich das erste zur Methylierung von C₁- oder C₈-Anthrachinon-glucosiden als zu schwach. Trotz der kurzen Einwirkungszeit von fünf Minuten bei der niedrigen Temperatur von 43 - 45° erhielten wir ein Methyläther-Gemisch. Versuche durch mildere Bedingungen, etwa durch Methylierung in wasserfreiem Aceton (IMRE¹⁴), eine selektive Verätherung zu erreichen, zeigten zu schlechte Ausbeuten.

Zur Identifizierung der verschiedenen Methyläther hatten wir nach UCHIBAYASHI¹⁵) aus freiem Aloe-emodin entsprechende Testsubstanzen hergestellt. Ein unscharf bei 211 - 214° (nach UCHIBAYASHI 217 - 218°) schmelzendes Gemisch aus gleichen Teilen 1- und 8-Monomethyläther erhielten wir mit Hilfe von Diazomethan. Der von UCHIBAYASHI nicht näher definierte Dimethyläther vom Schmelzpunkt 221 - 223° wurde mit Dimethylsulfat und Kaliumcarbonat in Aceton erhalten. Unsere Verbindung schmolz bei 225°. Wie sich beweisen ließ, war hier die Methylierung in 1- und 8-Stellung erfolgt. In den schwach basischem Milieu war die alkoholische OH-Gruppe der Seitenkette am C-Atom 11 frei geblieben. Der indirekte Beweis war dadurch gegeben, daß bei der Methylierung unseres 1- oder 8-Glucosids immer nur geringste Mengen des 1,8-Dimethyläthers erhalten wurden. Der 1,8,11-Trimethyläther mit einem Schmelzpunkt von 163 - 164° (nach UCHIBAYASHI 153 - 156°) wurde mit dem gleichen Methylierungsmittel in wässriger Natronlauge dargestellt. Auf Kieselgel-Platten in Benzol/Methanol (9.5:0.5) konnten die verschiedenen Aloe-emodin-methyläther aufgetrennt werden (siehe Abb. 3).

Wie sich nach Hydrolyse unseres Reaktionsgemisches mit Salzsäure chromatographisch zeigte, waren kleine Mengen 1,8-Dimethyläther und 1,8,11-Trimethyläther, ein Monomethyläther, der auf dem Chromatogramm dem unteren Fleck der Monomethyläther-Testsubstanz entsprach, sowie zu ca. 60% ein im UV-Licht orangerot fluoreszierender, nahe der Lösungsmittelfront liegender Stoff entstanden. Die Methoxy-Bestimmung und die Verbrennungsanalyse zeigten, daß es sich bei dem letzten Produkt um ein zweifach methyliertes Aloe-emodin handelte. Da der 1,8-Dimethyläther einen Schmelzpunkt von 225° aufweist, auf dem Chromatogramm bedeutend tiefer liegt und im UV-Licht, ebenso wie der Trimethyläther keine Fluoreszenz zeigt, konnte es sich bei diesem zweiten Dimethyläther, der bereits bei $153 - 153,5^{\circ}$ schmolz, nur um einen Aloe-emodin-1,11- oder 8,11-Dimethyläther handeln.

Zur Beweisführung, daß in dem oben erwähnten tiefer schmelzenden Glucosidmaterial ein Aloe-emodin-1-glucosid enthalten war, methylierten wir dieses ebenfalls. Bei chromatographischer Auftrennung der erhaltenen Methyläther zeigte sich sowohl bei dem Monomethyläther, als auch bei dem Dimethyläther eine Aufspaltung in zwei dicht übereinander liegende Flecke. Die unteren der beiden waren jeweils sehr viel stärker ausgeprägt und entsprachen den aus reinem Glucosid gewonnenen Mono- und Dimethyläthern. Folglich waren die oberen Flecke aus der Verunreinigung entstanden. Da die Methoxy-Bestimmung dieser oberen Substanzen mit den berechneten Werten für einen Mono- und einen Dimethyläther übereinstimmte, mußte die Verunreinigung aus Aloe-emodin-1-glucosid bestanden haben.

b) Auftrennung der verschiedenen Methyläther

Da wir zur Weiteruntersuchung lediglich den Monomethyläther sowie den 1,11- oder 8,11-Dimethyläther verwenden konnten, war es notwendig, eine quantitative Trennmöglichkeit zu finden. Dabei kam uns die unterschiedliche

Löslichkeit der Äther in Lauge zu Hilfe. Eine direkte Auftrennung des gesamten Gemisches über eine Säule gelang nicht. Deshalb wurde die Lösung nach Hydrolyse des Gemisches mit Salzsäure und Extraktion mit Äthylacetat zur Trockne eingedampft, der Rückstand in wässriger Natronlauge gelöst und vorsichtig mit Toluol ausgeschüttelt. In der Toluol-Phase fanden sich die bei der Reaktion entstandenen geringen Anteile 1,8-Di- und 1,8,11-Trimethyläther, etwas freies Aloe-emodin, sowie fast die Gesamtmenge 1,11- oder 8,11-Dimethyläther. Der 1,8-Dimethyläther kristallisierte beim Einengen der Lösung aus. Der für uns wichtige 1,11- oder 8,11-Dimethyläther wurde auf einer Kieselgel-Säule mit Benzol/Methanol (9:1) abgetrennt. Die im UV-Licht orangerot fluoreszierende Zone setzte sich scharf von den übrigen ab und wurde als erste Fraktion aufgefangen. Aus Methanol kristallisierten orangefarbene Nadeln, die bei $153 - 153.5^{\circ}$ schmolzen. Die Verbrennungsanalyse und die Methoxy-Bestimmung stimmten mit den berechneten Werten für den Dimethyläther überein.

Die alkalische Phase, die die Gesamtmenge an Monomethyläther, sowie Aloe-emodin und wenig 1,11-Dimethyläther enthielt, wurde mit Eisessig angesäuert und mit Benzol ausgeschüttelt. Der Monomethyläther wurde ebenfalls auf einer Kieselgel-Säule mit Benzol/Methanol-Gemisch abgetrennt. Die gleichfalls orangerot fluoreszierende Zone wurde als letzte Fraktion aufgefangen. Der Monomethyläther kristallisierte sofort ohne Einengen der Lösung aus. Durch Umkristallisation aus Benzol erhielten wir gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt $223.5 - 224.5^{\circ}$. Verbrennungsanalyse und Methoxy-Bestimmung zeigten Übereinstimmung mit den theoretischen Werten.

Abb. 3 gibt einen Überblick über die chromatographische Auftrennung der Aloe-emodin-methyläther.

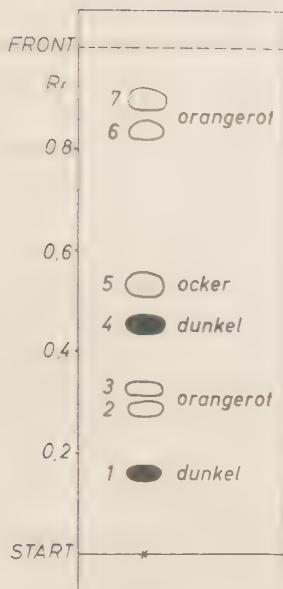


Abb. 3

Dünnschichtchromatographische Auftrennung des Methyl-
äther-Gemisches - Betrachtung im UV-Licht

Adsorbens: Kieselgel G

Fließmittel: Benzol/Methanol (9.5:0.5)

1. 1,8-Dimethyl-aloe-emodin
2. 1-Monomethyl-aloe-emodin
3. 8-Monomethyl-aloe-emodin
4. 1,8,11-Trimethyl-aloe-emodin
5. Aloe-emodin
6. 1,11-Dimethyl-aloe-emodin
7. 8,11-Dimethyl-aloe-emodin

3. Oxydation zum Methyl-rhein

Die Oxydation der CH_2OH -Gruppe zur Carboxyl-Gruppe erfolgte nach einem nach STOLL⁴⁾ modifizierten Verfahren mit Chromtrioxyd in Eisessig. Zur Bestätigung der Annahme, daß sich die methylierte alkoholische Hydroxyl-Gruppe ebenfalls leicht zur Carboxyl-Gruppe oxydieren läßt, wurden Aloe-emodin-1,11- oder 8,11-dimethyläther und 1- oder 8-monomethyläther getrennt oxydiert.

Um die freie Hydroxyl-Gruppe am C_1 oder C_8 zu schützen, wurden die beiden Äther in bekannter Weise mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat acetyliert. Die hellgelb gefärbten Acetyl-Produkte wurden ohne nochmaliges Umkristallisieren weiterverarbeitet. Die Ausbeuten an Rohprodukt betrugen 91.64% aus Monomethyläther und 93.56% aus Dimethyläther.

Nun wurde in Essigsäureanhydrid/Eisessig-Gemisch gelöst und durch portionsweise Zugabe von Chromtrioxyd in Eisessig bei 55° oxydiert. Nach 1stündigem Weitererhitzen auf dem Dampfbad wurde die Lösung mit Wasser verdünnt, mit Äthylacetat ausgeschüttelt und zur Trockne eingedampft.

Zur Abspaltung der Ester-Gruppen in 1- oder 8-, sowie in 11-Stellung wurden die Rückstände in wässriger Natronlauge aufgenommen und erwärmt, worauf sich nach kurzer Zeit das Natriumsalz ausschied. Nach Ansäuern mit Salzsäure wurde der Niederschlag mit Äthylacetat aufgenommen und die Lösung eingengt. Das ausgeschiedene Methyl-rhein wurde, um wenig anhaftendes Rhein in Lösung zu halten, aus essigsäuren Äthylacetat umkristallisiert. Der Schmelzpunkt des aus Aloe-emodin-monomethyläther gewonnenen Methyl-rheins lag bei 295° , des aus Dimethyläther gewonnenen bei 293° . Die Ausbeuten betrugen 16.63% und 25.15%.

4. Identifizierung mit 1-Methyl-rhein

Der Mischschmelzpunkt der vorliegenden Methyl-rheine mit 1-Methyl-rhein von STOLL⁴⁾ (Smp. 300 - 303°) zeigte keine Depression. Mit 8-Methyl-rhein von BELLAART⁵⁾ (Smp. 315 - 317°) ergab sich ein unscharfer Mischschmelzpunkt um 270°.*) Zur endgültigen Identifizierung wurden die IR-Spektren verglichen (siehe Abb. 5,6,7, S. 17). Das IR-Spektrum des aus dem Monomethyläther gewonnenen Methyl-rheins stimmte mit dem 1-Methylrhein genau überein. Im Spektrum des aus dem Dimethyläther erhaltenen Oxydationsproduktes waren geringe Abweichungen bei den Wellenlängen 5.8; 8.3; 11.3; 13.7 - 13.8 μ zu beobachten. Die Ursachen konnten nicht geklärt werden. Es mußte sich auch hier um 1-Methyl-rhein handeln, da es chromatographisch mit der Testsubstanz in Farbe und Laufhöhe übereinstimmte und mit 1-Methyl-rhein im Gegensatz zu 8-Methyl-rhein keine Schmelzpunktsdepression ergab. In Abb. 4 wird die chromatographische Auftrennung gezeigt.

*) Wir danken Herrn Professor Dr. A. Stoll (Basel) und Herrn Dr. A.C.Bellaart (Eindhoven) für die freundliche Übersendung von 1- und 8-Methyl-rhein.

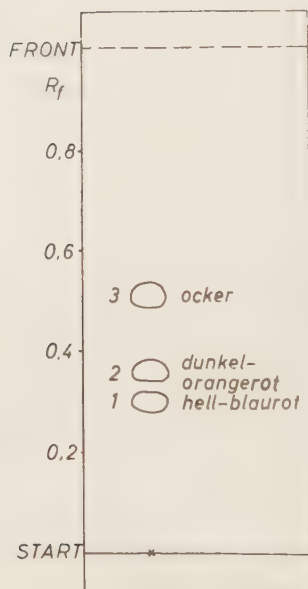


Abb. 4

Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Oxydations-
produkte - Betrachtung im UV-Licht

Adsorbens: salzsaures Kieselgel G

Fließmittel: Benzol/Methanol (9:1)

1. 8-Methyl-rhein
2. 1-Methyl-rhein
3. Rhein

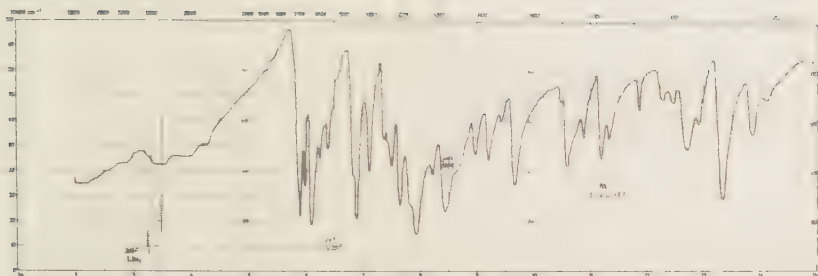


Abb. 5
IR-Spektrum des 1-Methyl-rheins

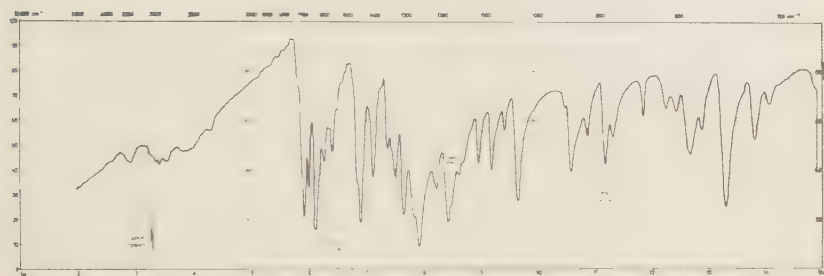


Abb. 6
IR-Spektrum des Methyl-rheins aus Monomethyl-aloe-emodin

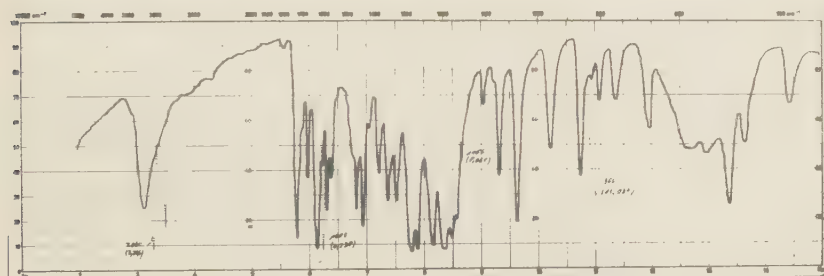


Abb. 7
IR-Spektrum des 8-Methyl-rheins

B. Bestimmung der Zuckerstellung beim Chrysophanol-mono- β -D-glucosid

Chrysophanol (= Chrysophansäure), ein 1,8-Dihydroxy-3-methyl-anthrachinon, findet sich z.T. frei, z.T. als Glucosid vor allem in Rheum-, Rumex- und Rhamnus-Arten.

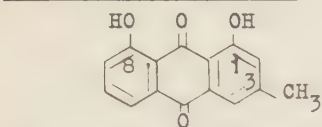
Als Aglucon wurde es häufig aus verschiedensten Pflanzen isoliert. Seine Konstitution wurde von FISCHER¹⁶⁾ aufgeklärt und durch Synthese von EDER¹⁷⁾ bestätigt. Die Isolierung des Monoglucosids aus Rheum palmatum gelang bisher nur GILSON¹⁸⁾ und LEUE³⁾.

Die Verknüpfungsstelle des Zuckers am Anthrachinonkern war noch nicht geklärt. Wir gingen wie bei Aloe-emodin-8-glucosid vor. Auch hier konnte synthetisches Glucosid eingesetzt werden, da es mit dem isolierten Glucosid übereinstimmte. Als fragliche Verknüpfungsstellen kommen am Chrysophanol nur zwei Positionen in Betracht, die Hydroxyl-Gruppe am C-Atom 1 und die am C-Atom 8. Folglich wurde die freie Hydroxyl-Gruppe methyliert, anschließend der Zucker abgespalten und die Methyl-Gruppe am C-Atom 3 zur Carboxyl-Gruppe oxydiert. Das darauf resultierende Methyl-rhein konnte wiederum mit dem vollsynthetisch dargestellten 1- bzw. 8-Methyl-rhein verglichen werden.

Der Syntheseweg ist in Schema 2 skizziert:

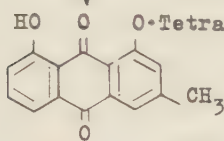
S c h e m a 2

Synthese des Glucosids

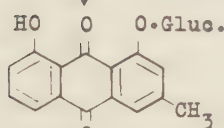


Chrysophanol

Glucosidierung



Verseifung



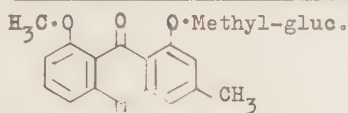
Chrysophanol-

8-O-glucosid

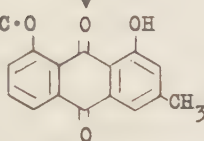
Methylierung



Überführung in 8-Methyl-rhein



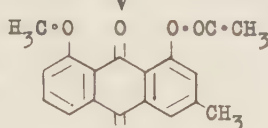
Verseifung



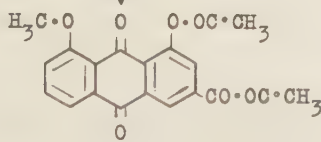
8-Methyl-

chrysophanol

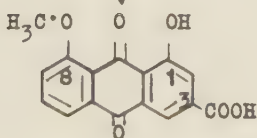
Acetylierung



Oxydation



Verseifung



8-Methyl-rhein

1. Synthese des Chrysophanol-monoglucosids

a) Glucosidierung und Entacetylierung eines Chrysophanol-Physcion-Gemisches

Die Glucosidierung von Chrysophanol wurde schon mehrmals in der Literatur beschrieben. Als erster arbeitete TAKAHASHI¹¹⁾ eine Methode aus, die FOSTER¹⁹⁾ wiederholte. MÜHLEMANN¹³⁾ variierte dieses Verfahren und führte die Verknüpfung in Pyriden aus.

Diese Methode ließ sich gut reproduzieren. Die Glucosidierung nach FUJISE¹²⁾, die wir bei Aloe-emodin anwandten, ergab eine bedeutend schlechtere Ausbeute.

Als Ausgangsmaterial wurde Chrysophanol^{*)} eingesetzt, das einen Schmelzpunkt von 165° (theor. 196°) zeigte. Obwohl sich plattenchromatographisch ergab, daß in dem Präparat ca. 45% Physcion enthalten waren, wurde das gesamte Gemisch eingesetzt. Die Verknüpfung mit α -Acetobrom-d-glucose erfolgte in Pyridin unter der katalytischen Wirkung von Silberoxyd und unter Zusatz von Magnesiumsulfat. Das entstandene Tetraacetyl-glucosid-Gemisch wurde durch 10%ige Essigsäure von Pyridin befreit, in Chloroform aufgenommen, mit Äther ausgefällt und das Rohprodukt sofort entacetyliert. Das Chrysophanol-Physcion-Glucosid-Gemisch kristallisierte in gelben Nadeln aus Methanol. Die Ausbeute betrug 45.8% (berechnet auf das Mittel der Mol.Gew. beider Glucoside).

b) Trennung der beiden Glucoside

Um das Chrysophanol-glucosid vom Physcion-glucosid zu trennen, chromatographierten wir das Gemisch an einer Perlon-Säule. Das im UV-Licht orangerot fluoreszierende Chrysophanol-glucosid, das sich gut von dem etwas schwächer fluoreszierenden zweiten Glucosid abtrennte, erschien als erste Zone. Der Rückstand der erhaltenen

*) Chrysophanol puriss., Fa. C. Roth, Karlsruhe

reinen Fraktionen wurde zweimal aus Methanol umkristallisiert. Die gelben Nadeln, die unter der IR-Lampe getrocknet wurden, schmolzen bei $236 - 237^{\circ}$.

Der Mischschmelzpunkt des synthetischen und des isolierten Glucosids ergab keine Depression. Die IR-Spektren stimmten genau überein (siehe Abb. 8). Damit war die Identität beider Substanzen bewiesen.

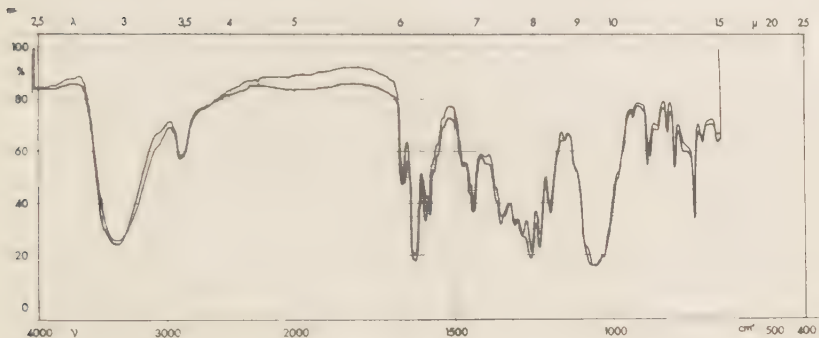


Abb. 8

IR-Überlagerungsspektrum des synthetischen und isolierten
Chrysophanol-mono-glucosids

2. Methylierung des Chrysophanol-glucosids

Wir methylierten Chrysophanol-glucosid analog der bei Aloe-emodin-glucosid beschriebenen Methode durch 20minütiges Erhitzen auf $40 - 42^{\circ}$. Als Reaktionsprodukt erhielten wir gelbe Kristalle, die bei $176 - 177^{\circ}$ schmolzen und weder mit 1-Methyl-chrysophanol von STOLL²⁰⁾ (Smp. $196 - 200^{\circ}$) noch mit 8-Methyl-chrysophanol von NAYLOR²¹⁾ (Smp. $202 - 204^{\circ}$) übereinstimmten. Nach Acetylierung und Oxydation des Methylproduktes zeigte sowohl die Chromatogra-

phie als auch der Schmelzpunkt (Smp. 175°), daß ein Gemisch aus gleichen Anteilen 1- und 6-Methyl-rhein (Smp. $300 - 303^{\circ}$ und $313 - 315^{\circ}$) entstanden war.

Hieraus ergaben sich zwei Möglichkeiten: bei der Methylierung des Glucosids hatte bereits ein isomeres Glucosid-Gemisch vorgelegen, oder aber während dieser Umsetzung waren durch teilweise Hydrolyse zwei isomere Chrysophanol-mono-methyläther entstanden. Da das natürliche Vorkommen zweier Isomer-glycoside ziemlich unwahrscheinlich ist, zogen wir die zweite Möglichkeit in Betracht. Bereits FOSTER¹⁹⁾ hatte die Spaltbarkeit von Chrysophanol-glucosid durch Natronlauge, Borax und Salzsäure in der Siedehitze untersucht und gezeigt, daß die Hydrolysegeschwindigkeit in Natronlauge am größten ist. Daher wiederholten wir die Methylierung des Glucosids in der Kälte. Es zeigte sich, daß nun überwiegend ein Chrysophanol-monomethyläther gebildet wurde. Folglich lag als Glucosid eine einheitliche Substanz vor, die aber gegenüber Lauge im Verhältnis zu Aloe-emodin-glucosid wesentlich labiler war.

Die Reaktionszeit der Methylierung bei $15 - 20^{\circ}$ verlängerte sich jetzt auf 2.5 Std. und es wurden nur ca. 60 - 70% des Glucosids umgesetzt. Nach Abspaltung des Zuckers zeigte sich im Reaktionsgemisch neben Mono-methyl-äther geringste Mengen des im UV-Licht dunkel fluoreszierenden Dimethyläthers sowie freies Chrysophanol. Die Abtrennung vom Aglucon gelang quantitativ nur auf Kieselgel-Platten in Benzol/Methanol (9:1). Die entsprechende Zone wurde ausgekratzt, mit Methanol eluiert und die Lösung abgedampft. Der Hauptanteil des Rückstandes kristallisierte aus Methanol in orangeroten Nadeln, die bei 198° schmolzen. Ein geringer Anteil, der aus der Mutterlauge gelb auskristallisierte, schmolz bereits bei 175° . Trotz der angewandten milden Bedingungen war also eine geringfügige Spaltung des Glucosids nicht vollständig zu verhindern.

Die Ausbeute an reinem Chrysophanol-monomethyläther betrug 39.6%. Die Verbrennungsanalyse, sowie die Methoxy-Bestimmung zeigten Übereinstimmung mit den berechneten Werten.

3. Oxydation zum Methyl-rhein

Die Oxydation des Chrysophanol-monomethyläthers erfolgte nach Acetylierung der freien Hydroxyl-Gruppe auf die gleiche Art wie bei Aloe-emodin-methyläther. Aus essigsaurem Äthylacetat kristallisierten rote Nadeln vom Schmelzpunkt 313° . Die Ausbeute betrug 12.1%.

Der Mischschmelzpunkt mit 1-Methyl-rhein (Smp. $300 - 303^{\circ}$) von STOLL⁴⁾ lag bei 269° , der mit 8-Methyl-rhein (Smp. $313 - 315^{\circ}$) von BELLAART⁵⁾ bei 314° . Das IR-Spektrum zeigte völlige Übereinstimmung mit dem des 8-Methyl-rheins (siehe Abb. 9 und 10). Der Zucker des Chrysophanol-mono-glucosids ist folglich mit der Hydroxyl-Gruppe am C-Atom 1 verknüpft.

Dadurch ist die Behauptung BELLAART's²²⁾ widerlegt, aus synthetischem Chrysophanol-glucosid entsünde durch Methylierung das 1-Methyl-chrysophanol und der Zucker befinde sich daher am C₈-Hydroxyl.

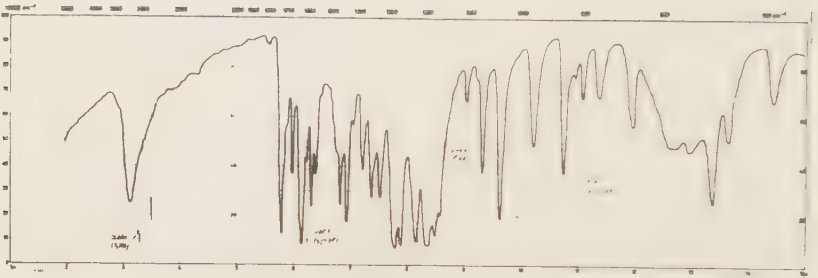


Abb. 9

IR-Spektrum des 8-Methyl-rheins

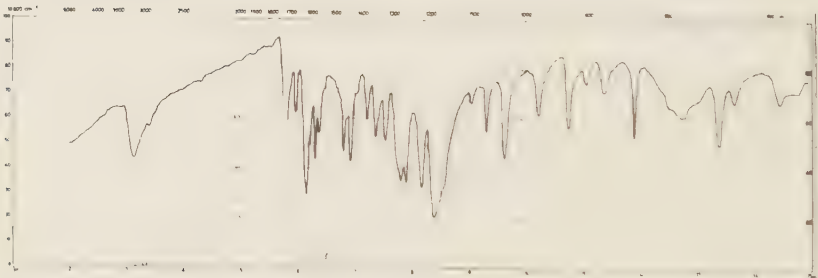


Abb. 10

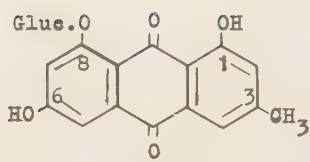
IR-Spektrum des Methyl-rheins aus Methyl-chrysophanol

C. Vergleichende Untersuchung über die Stellung der Glucose
beim Emodin- und Physcion-monoglucosid

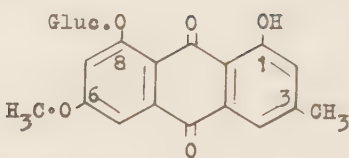
Emodin und Physcion wurden aus zahlreichen Vertretern der Rhamnaceen und Polygonaceen, sowie aus Flechten und niederen Pilzen isoliert. EDER und WIDMER²³⁾ klärten die Konstitution des Emodins durch Synthese als ein 1,6,8-Trihydroxy-3-methyl-anthrachinon auf. Später zeigten EDER und HAUSER²⁴⁾ durch selektive Methylierung des Emodins, daß Physcion ein Emodin-6-monomethyläther ist. Beide Anthrachinon-glycoside konnte erstmals LEUE³⁾ aus Rhiz. Rhei in kristalliner Form isolieren und als Monoglucoside identifizieren. Zwar haben GILSON¹⁸⁾ und HOLMSTRÖM²⁵⁾ bereits früher unter dem Namen Rheochrysin ein Physcion-glucosid beschrieben, doch dürfte wegen des um 32° tiefer gefundenen Schmelzpunkts kein reines Physcion-glucosid vorgelegen haben.

Bis heute ist bei keinem der beiden Glucoside die Verknüpfungsstelle des Zuckers mit dem Anthrachinonkern bestimmt. Die vorliegende Untersuchung sollte klären, ob die Glucose bei beiden Anthrachinonen über das gleiche Hydroxyl gebunden ist. Durch Methylierung und nachfolgende Hydrolyse der Glucoside muß bei übereinstimmender Position des Zuckers der gleiche Methyläther erhalten werden (siehe Schema 3, S. 26).

S c h e m a 3

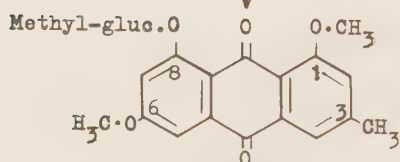


Emodin-glucosid

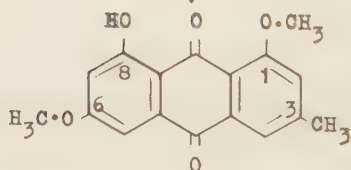


Physcion-glucosid

Methylierung



Verseifung



Emodin-dimethyläther

=

Physcion-monomethyläther

1. Methylierung von Emodin-glucosid

Wir isolierten nach LEUE³⁾ aus Rhiz. Rhei Emodin-glucosid, indem wir den Äthylacetat-Auszug über eine Polyamid-Säule mit Methanol/Wasser-Gemisch auftrennten. Das so erhaltene reine Glucosid methylierten wir nach der bereits bewährten Methode mit Dimethylsulfat in wässriger Natronlauge. Als die günstigste Reaktionstemperatur erwies sich 55°. Die Methylierung war in diesem Falle nach 7maliger Zugabe von konzentrierter Natronlauge innerhalb einer Stunde beendet. Auf dem Dampfbad wurde das Gemisch eine weitere Stunde erhitzt, anschließend in Aceton gelöst und mit Salzsäure durch 1stündiges Erhitzen hydrolysiert. Aus Methanol kristallisierten gelbe Nadeln. Auf Kieselgel-Platten in Benzol zeigte sich, daß Emodin-6-monomethyl- (=Physcion) und Emodin-1,6- oder 8,6-dimethyläther im Verhältnis 1:1 entstanden waren. Die Trennung der beiden erfolgte nach IMRE¹⁴⁾ auf einer Kieselgel-Säule durch Elution des Physcions mit Benzol. Anschließend wurde der Dimethyläther mit Äthylacetat herausgelöst. Er kristallisierte aus Methanol und zeigte einen Schmelzpunkt von 193°. Die Ausbeute an Physcion/Emodin-dimethyläther-Gemisch betrug 95.8%. Aus dem Gemisch wurden 46.5% Emodin-dimethyläther erhalten.

2. Vergleich mit dem Dimethyläther aus Physcion-glucosid

IMRE hat aus seinem synthetischen Physcion-monoglucosid, das sich mit dem von LEUE aus Rhiz. Rhei isolierten Glucosid als identisch erwiesen hatte, durch partielle Methylierung einen Emodin-1,6- oder 8,6-dimethyläther hergestellt, der bei 196° schmilzt. Der zu diesem isomere, aus freiem Emodin hergestellte 1,6- oder 8,6-Dimethyläther hat demgegenüber einen Schmelzpunkt von 201°.

Der Mischschmelzpunkt unseres Emodin-dimethyläthers ergab mit dem 1,6- oder 8,6-Dimethyläther keine Depression, während er mit dem isomeren Dimethyläther bei 170° lag.

Auch das IR-Spektrum stimmte mit dem aus Physcion hergestellten Dimethyläther überein und unterschied sich deutlich von dem zweiten (siehe Abb. 11 und 12).

Damit war bewiesen, daß der Zucker des natürlichen Emodin-monoglucosids nur mit der Hydroxyl-Gruppe am C-Atom 1 oder 8 verknüpft sein kann, ferner daß er an der gleichen Stelle wie beim natürlichen Physcion-monoglucosid haftet.

Um eine Entscheidung über die 1- oder 8-Position zu treffen, ist ein Alkali-Abbau oder Totalsynthese der beiden in Frage kommenden Monomethyläther notwendig.

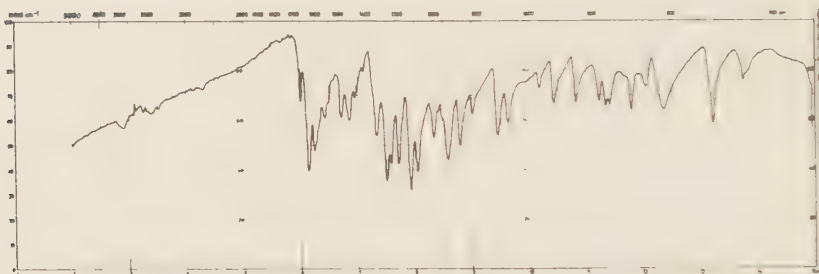


Abb. 11

IR-Spektrum des Emodin-dimethyläthers aus Emodin-glucosid

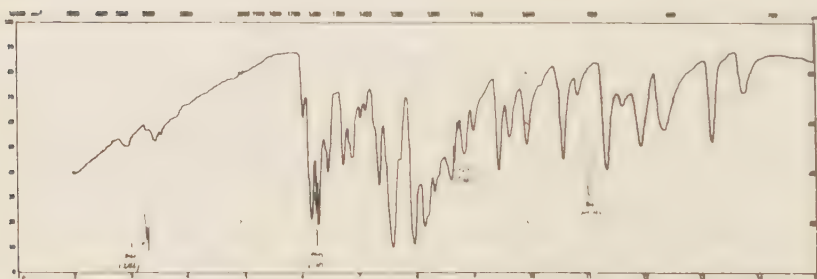


Abb. 12

IR-Spektrum des Emodin-dimethyläthers aus Emodin

II. Isolierung von Monoglucosiden aus Folia Sennae

Die erste ausführliche und grundlegende Arbeit über die Inhaltsstoffe von Folia Sennae stammt von TUTIN²⁶⁾. Er untersuchte die drei Handelsformen Tinevelly Senna (*Cassia angustifolia* Vahl), Alexandriner Senna (*Cassia acutifolia* Delile) und Peru-Senna. In Tinevelly-Senna fand er Rhein, Aloe-emodin, Kämpferol, Kämpferin, Myricyl-Alkohol, Phytosterol, Phytosterolin, Salizylsäure, Palmitin- und Stearinsäure, einen amorphen, nicht näher erkannten Stoff, den er als Bestandteil eines sogenannten Harzes bezeichnet und ein Magnesium-Salz einer nicht definierten organischen Säure. Ferner gibt er an, eine Mischung aus Aloe-emodin- und Rheinglucosid erhalten zu haben, die er beide aber nur als Aglucone nachweisen konnte. Aus Peru-Senna, die sich botanisch nicht von der Tinevelly Senna unterscheidet, isolierte er die gleichen Inhaltsstoffe und zusätzlich Isorhamnetin sowie das zugehörige Glucosid. In der Alexandriner Senna findet er neben Rhein, Aloe-emodin, Kämpferol und Isorhamnetin, ferner Myricyl-Alkohol, Phytosterolin und ebenfalls ein Glucosid-Gemisch aus den vier erstgenannten Stoffen, von denen ihm ebenfalls keine Reindarstellung gelang. Als weitere Inhaltsstoffe konnte STOLL⁴⁾ später die Sennoside A und B isolieren. In zwei Mitteilungen berichten CRELLIN²⁷⁾ und FAIRBAIN²⁸⁾ über die Isolierung von zwei neuen Substanzen, allerdings ohne Einzelheiten. Sie geben an, Rhein-8-glucosid, Rhein-8-diglucosid, Rhein-anthron-8-glucosid, Aloe-emodin-glucosid sowie zwei sogenannte Primärglycoside unterschiedlichen Mol.-Gew. und mit noch fraglicher Struktur erhalten zu haben. DEQUEKER²⁹⁾ berichtet von neuen Iso- und Heterodianthronen. Er gibt an, chromatographisch neben Sennidin ein weiteres Isodianthron, ein Aloe-emodin-dianthron und zwei Heterodianthrone, Rhein-Aloe-emodin-dianthron und Rheinemodin-dianthron nachgewiesen zu haben. Nähere Angaben über Reindarstellung, Schmelzpunkte, Verbrennungsanalyse etc. werden nicht gemacht.

1. Eigene Untersuchungen

Zur Abtrennung der störenden Chlorophyllmengen mazerierten wir die Droge solange mit Äther, bis dieser nur noch schwach grün gefärbt war. Dadurch wurde gleichzeitig ein Großteil der Fette, Harze und Anthrachinon-aglucone (Rhein und Aloe-emodin) entfernt. Anschließend extrahierten wir durch fünfmaliges längeres Stehenlassen mit 95%igem Methanol. Der 5%ige Wasser-Zusatz war notwendig, um alle vorhandenen Glucoside zu erfassen. Die vereinigten Auszüge engten wir im Vakuum unterhalb 35° bis zu dicker, sirupöser Konsistenz ein. Dann nahmen wir die Masse in Wasser auf und schüttelten noch mehrmals zur Entfernung des restlichen Chlorophylls mit Chloroform aus. Nun extrahierten wir die wässrige Lösung mehrmals mit Äthylacetat, anschließend mit Äthylmethylketon. Hierdurch erfolgte eine gewisse Vortrennung des Glucosid-Gemisches. Mit Äthylacetat wurde eine im UV-Licht blau und eine grün fluoreszierende Substanz unbekannter Struktur fast quantitativ herausgelöst. Der Äthylmethylketon-Auszug hingegen enthielt die Hauptmenge des Kampferol-glycosids. Beide Ausschüttelungen trennten wir auf einer Polyamid-Säule mit Methanol/Wasser-Gemisch steigender Alkohol-Konzentration auf.

2. Isolierung von Aloe-emodin-8-glucosid

Als günstigstes Elutionsmittel erwies sich eine Mischung von Methanol/Wasser im Verhältnis 4:b. Dabei wurde im Vorlauf eine im UV-Licht blau, dann eine grün fluoreszierende Fraktion aufgefangen. Nachdem diese völlig ausgewaschen waren, folgte eine orangerot fluoreszierende Zone. Nach Einengen der Lösung im Vakuum, kristallisierten aus Methanol goldgelbe Nadeln, die bei 239° schmelzen und im Chromatogramm auf derselben Höhe wie Aloe-emodin-8-glucosid lagen. Nach der Hydrolyse mit Salzsäure war chromatographisch eindeutig Aloe-emodin nachzuweisen. Der Misch-

schmelzpunkt mit unserem synthetisierten Aloe-emodin-8-glucosid ergab keine Depression. Das IR-Spektrum stimmte ebenfalls genau mit diesem überein (siehe Abb. 13, S. 32). Die Verbrennungsanalyse entsprach der theoretischen Berechnung. Plattenchromatographisch war im Gegensatz zu dem aus Rhiz. Rhei isolierten Aloe-emodin-glucosid keinerlei Verunreinigung festzustellen, die auf Vorhandensein auch nur geringer Mengen 1-Glucosid hätte schließen lassen.

3. Isolierung von Emodin-glucosid

Nach Abtrennung der oben genannten Substanzen waren auf der Polyamid-Säule noch zwei Zonen der Äthylacetat- und drei Zonen der Äthylmethylketon-Ausschüttelung zu sehen. Die unterste des letztgenannten Extraktes fluoreszierte im UV-Licht nicht. Wir eluierten sie mit 70%igem Methanol. Wie sich durch Vergleich mit Testsubstanzen und Sprühreaktionen auf dem Chromatogramm zeigte, handelte es sich um ein Kämpferol-glycosid, ein häufig vorkommendes Flavon.

Als letzte Zonen beider Extrakte waren am Startpunkt ein hellgelb und direkt darunter ein hellrot fluoreszierender Stoff zu erkennen. Da es sich bei dem ersten um Rhein handelte, lösten wir ihn nicht von der Säule. Den zweiten eluierten wir mit reinem Methanol. Beim Einengen der Lösung kristallisierten goldgelbe Nadeln aus. Nach einmaligem Umkristallisieren schmolzen die Kristalle scharf bei 212° , kristallisierten beim Weitererhitzen wieder aus und zersetzten sich bei $234 - 239^{\circ}$. Chromatographisch hatte das Glucosid und sein Aglucon dieselben R_f -Werte wie authentisches Emodin-glucosid und Emodin. Das UV-Spektrum, mit Maxima bei 222, 284 und $423\text{ m}\mu$ sowie das IR-Spektrum stimmten mit denen des Emodin-glucosids überein (siehe Abb. 14, S. 32). Die Verbrennungsanalyse zeigte ein gleiches Ergebnis.

LEUE⁷⁾ gibt für sein isoliertes Emodin-glucosid einen

Schmelzpunkt von $189 - 190^{\circ}$ an. Da unsere Substanz bei 212° schmolz, mußte seine kristallwasserhaltig oder noch verunreinigt gewesen sein.

Damit war es gelungen, das von TUTIN und CRELLIN bereits erwähnte Aloe-emodin-glucosid zu isolieren und einwandfrei zu identifizieren. Ferner konnte erstmals aus Folia Sennae ein Emodin-monoglucosid isoliert werden und für dieses ein bedeutend höherer Schmelzpunkt als der bis dahin bekannte ermittelt werden.

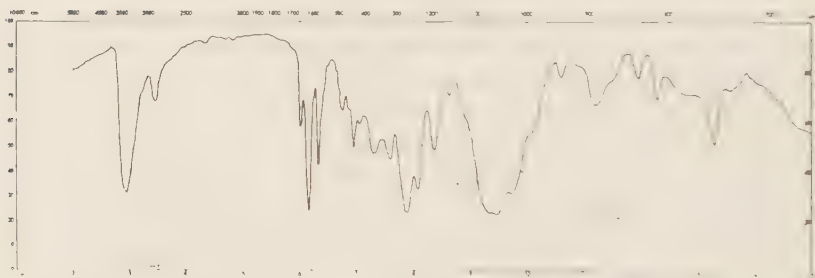


Abb. 13

IR-Spektrum des Aloe-emodin-8-glucosids

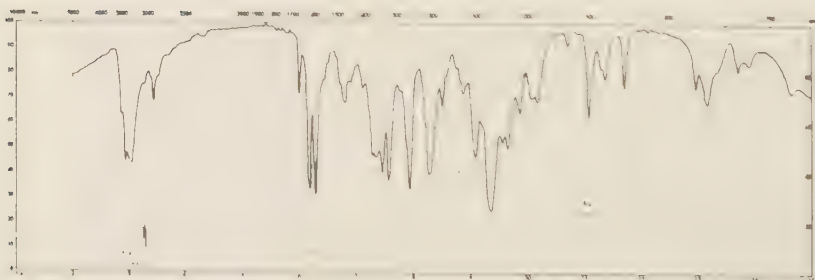


Abb. 14

IR-Spektrum des Emodin-glucosids

4. Isolierung und Untersuchung der im UV-Licht blau fluoreszierenden Substanz

Da in der Literatur das Vorkommen einiger reduzierter Anthrachinone und Anthranole beschrieben wurde und DEQUEKER von dem chromatographischen Nachweis mehrerer Dianthrone berichtete, versuchten wir solche zu isolieren.

Wir engten die im Vorlauf mit 40%igem Methanol erhaltenen, im UV-Licht blau und grün fluoreszierenden Substanzen ein. Der Rückstand ließ sich nicht kristallisieren, ebenso wenig wie das acetylierte Produkt. Als einzige Möglichkeit beide Substanzen zu trennen, erwies sich die Dünnschichtchromatographie. Auf der Kieselgel-Platte in Äthylacetat/Methanol/Wasser (100:16.5:12.5) lagen die Substanzen dicht übereinander. Beide Zonen kratzten wir getrennt aus und eluierten anschließend mit Methanol.

Aus dem blau fluoreszierenden Anteil erhielten wir grün-gelbe, unter dem Mikroskop sichtbare, feinste Kristallnadeln, die bei $179 - 181^{\circ}$ schmolzen. Die Substanz löste sich in Lauge ohne die typische Rotfärbung der Anthrachinone farblos auf. Nach Besprühen des Chromatogrammes mit Kalilauge leuchtete der Fleck intensiv gelb. Eine Hydrolyse der Substanz gelang nicht. Um evtl. vorliegendes Anthron oder Anthranol zu oxydieren, behandelten wir die Substanz mit Chrom-III-oxyd und Wasserstoffperoxyd. Beide Male erschienen auf dem Chromatogramm im UV-Licht ober- und unterhalb der Ausgangssubstanz zwei dunkle Flecke, die sich beim Besprühen mit Kalilauge schwach blaurot färbten. Ein Aglucon war auch jetzt chromatographisch nicht nachzuweisen. Das UV-Spektrum der Substanz zeigte Maxima bei den Wellenlängen 234 und 335 m μ und keine Ähnlichkeit mit einem der bekannten Anthrachinonspektren (siehe Abb. 15, S. 34). Das UV-Spektrum der oxydierten Substanz ergab eine stetig abfallende Kurve. Das IR-Spektrum deutete auf eine einfach gebaute Verbindung hin (siehe Abb. 16, S. 34). Es handelte sich hier also weder um reduzierte Monoanthrachi-

none noch um die von DEQUEKER besprochenen Dianthrone. Offenbar lag die Vorstufe eines Anthrachinonkörpers vor.

Den grün fluoreszierenden Anteil konnten wir nicht kristallin erhalten. Durch seine intensive Fluoreszenz war eine größere Substanzmenge vorgetäuscht worden. Zusätzlich ging wahrscheinlich ein Teil dieser Verbindung bei der Aufarbeitung in die blau fluoreszierende Substanz über.

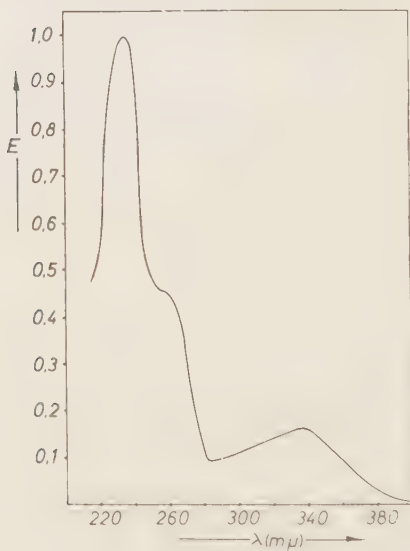


Abb. 15

UV-Spektrum der im
UV-Licht blau fluo-
reszierenden Substanz

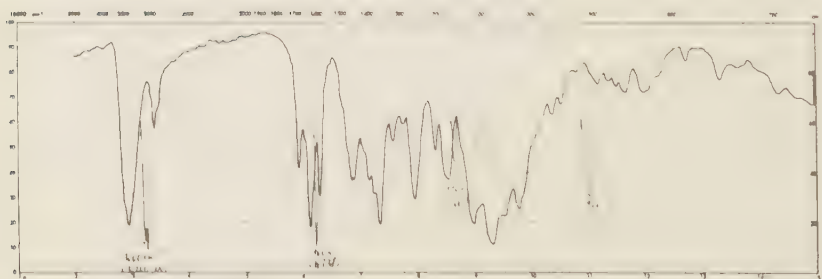


Abb. 16

IR-Spektrum der im UV-Licht blau fluoreszierenden Substanz

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Chromatographie

a) Säulenchromatographie

P o l y a m i d - Säule: Das Adsorbens bestand aus Ultramid K 228 BM 2 der Fa. BASF, Ludwigshafen. Um beim Chromatographieren das Auswaschen von Monomerbestandteilen möglichst zu vermindern, wurde das Pulver $1/2 - 1$ Tag vor Einfüllen in die Säule mit Methanol behandelt. Die Abtropfgeschwindigkeit betrug ca. 30 - 40 Tropfen pro Minute.

K i e s e l g e l - Säule: Als Füllmaterial wurde Kieselgel Merck der Korngröße 0.2 - 0.5 mm verwendet. Mit Benzol wurde angeschlemmt. Die Abtropfgeschwindigkeit betrug ca. 15 - 20 Tropfen pro Minute.

b) Dünnschichtchromatographie

Die verwendeten Glasplatten hatten eine Größe von 20 x 12 cm. Als Kammern dienten Weckgläser mit einer Höhe von 26 cm und einem Durchmesser von 15 cm, die mit Glasplatten abgedeckt wurden. Sämtliche Platten wurden unbesprüht im UV-Licht betrachtet.

P o l y a m i d - Platten: Grobkörniges Perlön der Fa. BAYER, das unter dem Namen Durethan BK 31 F im Handel ist, wurde nach einem in unserem Institut ausgearbeiteten Verfahren³⁰⁾ behandelt, um die zur Auftrennung notwendige Korngröße zu erzielen. Dazu wurde das Polyamid auf dem Dampfbad in konzentrierter Salzsäure aufgelöst und unter Rühren mit Leitungswasser, das mit bestimmter Fließgeschwindigkeit zugegeben werden mußte, ausgefällt. Das abgenutzte, ausgewaschene Perlön wurde Methanol feucht aufbewahrt.

Zur Bereitung der Dünnschicht-Platten wurden jeweils 15 g scharf abgenutztes Perlön in 45 ml Äthylacetat, dem zur besseren Haftfähigkeit der Schicht 1% Subitogen 2 N der Farbwerke HOECHST zugesetzt waren, suspendiert und durch

ein Sieb von 1 mm Maschenweite gleichmäßig auf 5 Glasplatten auflaufen gelassen. Nach wenigen Minuten war die Schicht getrocknet und gebrauchsfertig.

Kieselgel - Platten:

neutral: Als Adsorbens wurde Kieselgel G der Fa. Merck verwendet. Zum Bestreichen von 4 Glasplatten wurden 16 g des Pulvers mit 32 ml Wasser angeschlemmt und mit Hilfe eines Streichgerätes auf die Platten verteilt. Nach 20 Minuten Trocknen im Trockenschrank bei 120° waren sie mehrere Tage aktiv.

sauer: Zur Herstellung von sauren Platten wurden 16 g Kieselgel G mit 35 ml wässriger, 3.6%iger Salzsäure angeschlemmt und aufgestrichen. Die Trocknung erfolgte 15 Minuten bei 120°. Danach war die Schicht einen Tag lang aktiv. Zur Reaktivierung länger liegender Platten wurde nochmals 5 Minuten bei 120° erhitzt. Auf genaue Einhaltung der genannten Daten mußte geachtet werden, um den nötigen Salzsäure-Gehalt der Schicht zu garantieren. Bei längerem Erhitzen verflüchtigte sich zuviel Salzsäure, wodurch sich der Trenneffekt verschlechterte.

2. Herstellung von α -Acetobrom-d-glucose

α -Acetobrom-d-glucose wurde nach der Vorschrift von BARCZAI-MATOS³¹⁾ hergestellt.

3. Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden in den Apparaten der Fa. Büchi, Flawil/Schweiz nach TOTTOLI sowie der Fa. Bender u. Hobein, München, gemessen. Sie sind unkorrigiert.

4. Mikroanalysen

Die Verbrennungsanalysen und die Methoxy-Bestimmungen ließen wir bei der Fa. A. Bernhardt, Mülheim/Ruhr, ausführen.

5. IR-Spektren

Sämtliche IR-Spektren wurden als KBr-Preßlinge in einer Konzentration von 2/800 mg gemessen *).

A. Isolierung der Anthrachinon-Testsubstanzen aus Rhiz. Rhei nach LEUE⁷⁾

1. Reindarstellung

500.0 g Rhiz. Rhei wurden im Soxhlet zweimal mit 1.5 l Äthylacetat erschöpfend extrahiert, wozu 6 Tage nötig waren. Nach anschließendem mehrtägigem Stehen konnte vom Großteil des mitgelösten, inzwischen wieder ausgefallenen Gerbstoffs abfiltriert werden. Das Äthylacetat wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand in 100 ml 30%igem Methanol unter Erwärmen aufgenommen.

Die Auftrennung des Extraktes erfolgte wegen der großen Menge auf zwei Polyamid-Säulen von 6.5 cm Durchmesser und 45 cm Füllhöhe mit Methanol/Wasser-Gemisch steigender Alkoholkonzentration. Der Verlauf der Auftrennung wurde im UV-Licht verfolgt. Das erste Elutionsmittel bestand aus 40%igem Methanol. Zwei Vorfraktionen von je 200 ml mit einer blau und einer grün fluoreszierenden Substanz wurden abgetrennt und verworfen. Unmittelbar darauf folgte das orangerot fluoreszierende Aloe-emodin-glucosid. Nach dem Abtropfen von 650 ml Flüssigkeit wurde nach Erhöhung der Alkoholkonzentration auf 50% 500 ml des ebenfalls orangerot fluoreszierenden Chrysophanol-glucosids aufgefangen. Mit 300 ml 60%igem Methanol schloß sich orangerotes Physcion-glucosid an. Als letztes Glucosid löste sich das fast rot fluoreszierende Emodin-glucosid mit 450ml reinem Methanol ab.

*) Wir danken dem physikal. Labor des Org.-Chem. Instituts der Universität München (Direktor: Professor Dr. R. Huisgen) für die Aufnahme der IR-Spektren.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurde auf Reinheit der einzelnen Fraktionen geprüft. Mischfraktionen wurden nochmals über eine Polyamid-Säule gegeben, wobei nun sofort reines Methanol als Elutionsmittel angewendet werden konnte. Anschließend wurde im Vakuum abgedampft und sämtliche Glucosid-Rückstände durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol gereinigt. Die Identität der Glucoside wurde durch Feststellung der Schmelzpunkte und Mischschmelzpunkte, sowie durch chromatographischen Vergleich mit authentischen Glucosiden bewiesen.

Schmelzpunkte:	Aloe-emodin-glucosid	239°
	Chrysophanol-glucosid	245°
	Physcion-glucosid	234°
	Emodin-glucosid	212°

Sämtliche Mischschmelzpunkte ergaben keine Depression.

2. Plattenchromatographische Überprüfung

Adsorbens:	Polyamid
Fließmittel:	Methanol
Laufhöhe:	10 cm
Laufzeit:	40 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
Aloe-emodin-glucosid	0.6	orangerot
Chrysophanol-glucosid	0.67	orangerot
Physcion-glucosid	0.51	orangerot
Emodin-glucosid	0.41	rot

B. Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-
mono- β -D-glucosid-(8) (Aloe-emodin-8-glucosid) und Über-
führung in 8-Hydroxy-1-methoxy-anthrachinon-carbonsäure-
(3) (1-Methyl-rhein)

1. Darstellung des Glucosids

a) Reinigung des Aloins

120.0 g Aloin (Aloinum, Fa. Synochem, Berlin-Charlottenburg) wurden 2mal in ca. den gleichen Teilen Methanol auf dem Dampfbad am Rückflußkühler gelöst und durch einen Heißwassertrichter filtriert. Sehr schnell kristallisierte Aloin in langen gelben Nadeln aus.

Ausbeute: 75.0 g (62.5% d.Th.)

b) Darstellung des Aloe-emodins

70.0 g Aloin wurden mit 350.0 g Eisen-III-chlorid und 1 l Wasser 5 Stunden auf dem Heizpilz im Sieden gehalten. Nach Abkühlen der Lösung wurde der Rückstand abgenutscht, gut mit Wasser ausgewaschen, unter der Infrarot-Lampe scharf getrocknet und mehrmals mit siedendem Toluol extrahiert. Aus der eingengten Lösung kristallisierte Aloe-emodin aus, das einmal aus Toluol umkristallisiert wurde. Der Schmelzpunkt lag bei 209°.

Ausbeute: 25.0 g (55.3% d.Th.)

c) Glucosidierung zum Aloe-emodin-tetraacetylglucosid

14.0 g Aloe-emodin in 84 ml frisch destilliertem Chinolin wurden mit 30.0 g α -Acetobrom-d-glucose in 140 ml Benzol auf dem Magnetrührer gut gemischt und portionsweise mit 9.0 g Silberoxyd versetzt. Nach 18 Stunden Rühren bei Zimmertemperatur wurden nochmals 6.0 g Acetobromglucose und 1.8 g Silberoxyd zugegeben und weitere 5 Stunden gerührt. Nach dieser Zeit wurde von dem ausgeschiedenen Silberbromid abfiltriert und die Lösung zur Entfernung des Chinolins

mit 5%iger Schwefelsäure so lange ausgeschüttelt, bis die schwefelsaure Lösung nicht mehr rötlich, sondern nur noch schwach gelb gefärbt war. Das stark eingedickte Reaktionsprodukt wurde nun mit Chloroform verdünnt und zur Entfernung der Säure mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Die Lösung wurde stark eingeeengt. Es blieb ein grünbrauner, sirupöser Rückstand.

d) Entacetylierung zum Aloe-emodin-o-glucosid

Dieser Rückstand wurde in 300 ml Methanol gelöst, zum Sieden erhitzt, mit 30 ml 33%iger Natronlauge versetzt und 3 Minuten weiter im Sieden gehalten. Nun wurde mit 300 ml Wasser verdünnt, nochmals kurz erhitzt, mit Eisessig neutralisiert und der Alkohol im Vakuum abgedampft. Die wässrige Lösung wurde anschließend 2mal mit Methylisopropylketon ausgeschüttelt und beide Fraktionen, die, wie sich chromatographisch zeigte, fast ausschließlich nicht umgesetztes Aloe-emodin enthielten, verworfen. Die Extraktion des Glucosids erfolgte dann mit Äthylmethylketon. Reste des Glucosids ließen sich auch durch sehr langes Ausschütteln nicht völlig aus der Mutterlauge gewinnen, da dessen Löslichkeit in derselben zu groß war. Die chromatographisch reinen, auf der Kieselgel-Platte nur einen Fleck zeigenden, vereinigten orangeroten Auszüge wurden am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand 3mal aus Methanol umkristallisiert. Die orangeroten Nadeln des Aloe-emodin-8-glucosids schmolzen bei $239.5 - 240^{\circ}$.

Ausbeute: 1.7 g (7.6% d.Th.)

Die später folgenden Auszüge, die mit abnehmender Glucosidkonzentration langsam gelb wurden und chromatographisch eine Verunreinigung, wahrscheinlich isomeres Glucosid, zeigten, wurden getrennt abdestilliert und umkristallisiert. Der Schmelzpunkt schwankte je nach Menge der Verunreinigung zwischen $220 - 230^{\circ}$. Wir erhielten nochmals 1.5 g (6.7% d.Th.), die nicht verwertet werden konnten, da keine Abtrennung möglich war.

2. Herstellung von 8-Hydroxy-1-methoxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon (1-Methyl-aloe-emodin) und 8-Hydroxy-1-methoxy-3-methoxymethyl-anthrachinon (1,11-Dimethyl-aloe-emodin)

a) Methylierung des Glucosids

0.5 g Aloe-emodin-8-glucosid und 0.5 g Natriumhydroxyd wurden in 5.5 ml Wasser gelöst und unter kräftigem Schütteln bei 45° mit 2.5 ml Dimethylsulfat versetzt. Bei Eintritt saurer Reaktion (Farbänderung von rot nach gelb) wurde sofort noch einmal 1 ml und zweimal je 0.5 ml 40%iger Natronlauge zugefügt. Die gesamte Reaktionsdauer betrug 5 Minuten.

b) Abspaltung des Zuckers und Gewinnung der Methyläther

Zur Reaktionsmischung wurden 10 ml 9%iger Salzsäure gegeben und eine Stunde auf dem Dampfbad erhitzt. Anschließend wurde mit Äthylacetat extrahiert und die Lösung im Vakuum bis zur Trockne eingedampft.

Zur Trennung der verschiedenen Methyläther wurde der Rückstand in 1%iger Natronlauge gelöst und vorsichtig mit wenig Toluol ausgeschüttelt. Die Trennung wurde auf Kieselgel-Platten in Benzol/Methanol (9:1) verfolgt. Toluol-Phase: Im Toluol fanden sich die bei der Reaktion entstandenen geringen Anteile 1,8-Di- und 1,8,11-Trimethyläther, sowie fast die Gesamtmenge 1,11-Dimethyläther und etwas freies Aloe-emodin. 1,8-Dimethyläther kristallisierte beim Einengen der Lösung aus. Der für uns wichtige 1,11-Dimethyläther wurde auf einer Kieselgel-Säule von 2 cm Durchmesser und 25 cm Füllhöhe mit Benzol/Methanol (9:1) abgetrennt. Die unter der UV-Lampe orangerot fluoreszierende Zone setzte sich scharf von den übrigen ab und wurde als erste Fraktion aufgefangen. Durch Umkristallisation aus Methanol wurden orangerote Nadeln erhalten, die bei 153 - 153.5° schmolzen. Ausbeute: 0.068 g.

Verbrennungsanalyse und Methoxy-Bestimmung ergaben:

$C_{17}H_{14}O_5$ (298.28)

ber.	C	68.4%;	H	4.73%;	-OCH ₃	20.8 %
gef.	C	68.35;	H	4.89;	-OCH ₃	20.02%

Alkalische Phase: Die alkalische Lösung, die den gesamten Monomethyläther, sowie Aloe-emodin und wenig 1,11-Dimethyläther enthielt, wurde mit Eisessig angesäuert und mit Benzol ausgeschüttelt. Der Rückstand der am Rotationsverdampfer eingeengten Lösung wurde ebenfalls auf einer Kieselgel-Säule gleicher Größe und mit dem gleichen Lösungsmittel abgetrennt. Die ebenfalls orangerot fluoreszierende Zone des Aloe-emodin-monomethyläthers wurde als letzte Fraktion aufgefangen. Er kristallisierte sofort in der Lösung aus. Durch Umkristallisation aus Benzol erhielten wir gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 223.5 - 224.5°.

Ausbeute: 0.032 g

Verbrennungsanalyse und Methoxy-Bestimmung ergaben:

$C_{16}H_{12}O_5$ (284.25)

ber.	C	67.6 %;	H	4.25%;	-OCH ₃	10.91%
gef.	C	66.56%;	H	4.4 %;	-OCH ₃	10.82%

3. Oxydation zum 8-Hydroxy-1-methoxy-anthrachinon-carbonsäure-(3) (1-Methyl-rhein)

a) Acetylierung des 1-Methyl- und 1,11-Diacetyl-aloe-emodins

Die Gesamtmenge beider Substanzen wurde mit je 4 ml Essigsäureanhydrid und 0.1 g Natriumacetat versetzt und eine 3/4 Stunde auf dem Wasserbad gehalten. Danach wurde das Acetat mit Eiswasser gefällt, abgenutscht, mit Wasser gut ausgewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 0.038 g 1-Methoxy-8-acetoxy-3-acetoxymethyl-anthrachinon (91.64%)

0.0726 g 1-Methoxy-8-acetoxy-3-methoxymethyl-anthrachinon (93.56%)

Da beide Substanzen sehr rein erschienen, wurde wegen der geringen Substanzmengen auf Umkristallisation und Bestimmung der Schmelzpunkte verzichtet.

b) Oxydation und Hydrolyse zum 1-Methyl-rhein

Beide Substanzen wurden in je 4 ml eines Gemisches gleicher Teile Essigsäureanhydrid und Eisessig gelöst und innerhalb von 20 Minuten bei 55° 0.1 g, bei der größeren Menge 0.2 g Chromtrioxyd, gelöst in Eisessig/Essigsäureanhydrid-Gemisch tropfenweise zugesetzt. Nach einstündigem Weitererhitzen auf dem Dampfbad wurde mit viel Wasser verdünnt, mit Äthylacetat ausgeschüttelt und die Extraktionslösungen im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Die Rückstände wurden in 8%iger wässriger Natronlauge gelöst und zwei Stunden bei 55° auf dem Wasserbad gehalten. Nun wurde mit Eisessig angesäuert, mit Äthylacetat ausgeschüttelt und eingeengt. Das Oxydationsprodukt aus 1-Methoxy-8-acetoxy-3-acetoxymethyl-anthrachinon mußte über eine Kieselgel-Säule gereinigt werden. Beide Produkte kristallisierten aus essigsäurem Äthylacetat in orangeroten, scharf zugespitzten Prismen, das erste mit dem Schmelzpunkt 295°, das zweite mit 292°. Ausbeute: aus 1-Methoxy-8-acetoxy-3-acetoxymethyl-anthrachinon 0.005 g (16.63% d.Th.)
aus 1-Methoxy-8-acetoxy-3-methoxymethyl-anthrachinon 0.016 g (25.15% d.Th.)

4. Herstellung der Aloe-emodin-methyläther-Vergleichssubstanzen
nach UCHIBAYASHI¹⁸⁾

Die Testsubstanzen wurden durch Methylierung von Aloe-emodin in Anlehnung an die Angaben von UCHIBAYASHI hergestellt und durch Vergleich der Schmelzpunkte und Methoxyl-Werte bestimmt.

a) Aloe-emodin-monomethyläther

Eine ätherische Lösung von Diazomethan, aus 0.3 g p-Tolylsulfonylmethylnitrosamid in bekannter Weise hergestellt, wurde direkt in eine Lösung von 0.2 g Aloe-emodin in 170 ml Aceton überdestilliert. Als nach zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur ein erneutes Einleiten von Diazomethan keine Verbesserung der Ausbeute ergab (Chromatographisch waren ca. 60% nicht methyliertes Aloe-emodin zu erkennen), wurde abdestilliert und der Rückstand aus Methanol fraktioniert umkristallisiert. Die in Form gelber Nadeln anfallende Substanz, die sich plattenchromatographisch in zwei Isomere auftrennte, schmolz bei $211 - 214^{\circ}$ (nach UCHIBAYASHI $217 - 218^{\circ}$).

Die Methoxy-Bestimmung ergab:

$C_{16}H_{12}O_5$	(284.25)	ber.	$-OCH_3$	10.91%
		gef.	$-OCH_3$	10.73%

b) Aloe-emodin-dimethyläther

0.05 g Aloe-emodin wurden in 30 ml Aceton gelöst, mit 2.0 g Kaliumcarbonat und 1 ml Dimethylsulfat versetzt und am Rückflußkühler 2 Stunden unter Erwärmen gerührt. Nach nochmaligem Zusatz von 1.0 g Kaliumcarbonat und 0.5 ml Dimethylsulfat wurde eine weitere Stunde erhitzt. Anschließend wurde die Lösung, die nun keinen Monomethyläther mehr enthielt, sondern neben wenig nicht umgesetzten Aloe-emodin nur noch Dimethyläther, abgedampft und aus Methanol fraktioniert umkristallisiert. Wie im allgemeinen Teil beschrieben, hatte sich der 1,8-Dimethyläther gebildet, der ebenfalls in gelben Nadeln auskristallisierte. Der Schmelzpunkt lag bei $227^{\circ} - 228^{\circ}$ (nach UCHIBAYASHI $221 - 223.5^{\circ}$).

Die Methoxy-Bestimmung ergab:

$C_{17}H_{14}O_5$	(298.28)	ber.	$-OCH_3$	20.8%
		gef.	$-OCH_3$	20.85%

c) Aloe-emodin-trimethyläther

Eine Lösung von 0.13 g Aloe-emodin in 7.5 ml 4%iger Natronlauge wurde mit 1 ml Dimethylsulfat versetzt und bei Zimmertemperatur 1 1/2 Stunden gerührt. Unter weiterem Rühren wurde im Zeitraum von 2 Stunden noch 3mal je 0.5 ml Dimethylsulfat in 2.5 ml 4%iger Natronlauge zugefügt und anschließend über Nacht stehen gelassen. Am folgenden Tag wurde erneut 2mal mit je 0.5 ml Dimethylsulfat in 5 ml 8%iger Natronlauge versetzt und 8 Stunden gerührt. Längeres Stehenlassen oder weiterer Zusatz von Dimethylsulfat erwies sich als zwecklos. Das entstandene Reaktionsgemisch enthielt neben Trimethyläther noch 1,8- und 1,11-Dimethyläther, Monomethyläther, sowie freies Aloe-emodin. Die Auftrennung erfolgte wie unter B.2.b) beschrieben durch Vorfraktionieren mit Natronlauge. Anschließend wurde der Trimethyläther von dem noch im Gemisch befindlichen 1,11-Dimethyläther und Aloe-emodin auf der Kieselgel-Säule mit Benzol/Methanol (9:1) als Elutionsmittel abgetrennt, indem nach dem im UV-Licht orangerot fluoreszierenden 1,11-Dimethyläther die dunkel erscheinende Zone des 1,8,11-Trimethyläthers aufgefangen wurde. Durch viermaliges Umkristallisieren aus Methanol wurde er von wenig anhaftendem Aloe-emodin befreit. Er kristallisierte in orangeroten Nadeln vom Schmelzpunkt $163 - 164^{\circ}$ (nach UCHIBAYASHI $153 - 156^{\circ}$).

Die Methoxy-Bestimmung ergab:

$C_{18}H_{16}O_5$	(312.3)	ber.	- OCH_3	29.8 %
		gef.	- OCH_3	29.72%

5. Plattenchromatographische Überprüfung

a) Synthese des Aloe-emodin-glucosids

I. Adsorbens: Polyamid
 Fließmittel: Methanol
 Laufhöhe: 10 cm
 Laufzeit: 40 Min.

	Mittl. R_F -Werte	UV-Fluoreszenz
Aloe-emodin	0.52	ocker
Aloe-emodin-8-glucosid	0.6	orangerot
Aloe-emodin-tetraacetyl- glucosid	0.65	orangerot

II. Adsorbens: Kieselgel G Merck
 Fließmittel: Benzol/Methanol (9:1)
 Laufhöhe: 10 cm
 Laufzeit: 25 Min.

	Mittl. R_F -Werte	UV-Fluoreszenz
Aloe-emodin-8-glucosid	0.03	orangerot
Aloe-emodin-1-glucosid	0.07	orangerot
Aloe-emodin-tetraacetyl- glucosid	0.37	orangerot
Aloe-emodin	0.52	ocker

b) Auftrennung des Aloe-emodin-methyläther-Gemisches

Adsorbens: Kieselgel G Merck
 Fließmittel: Benzol/Methanol (9.5:0.5)
 Laufhöhe: 10 cm
 Laufzeit: 25 Min.

	Mittl. R_F -Werte	UV-Fluoreszenz
1,8-Dimethyl-äther	0.16	dunkel (nicht fluor.)
1-Monomethyläther	0.25	orangerot
8-Monomethyläther	0.31	orangerot
1,8,11-Trimethyläther	0.43	dunkel (nicht fluor.)
Aloe-emodin	0.48	ocker
1-Dimethyläther	0.82	orangerot
8-Dimethyläther	0.87	orangerot

c) Auftrennung von 1- und 8-Methyl-rhein

Adsorbens: salzsaures Kieselgel G Merck (Vorschrift
Fließmittel: Benzol/Methanol (9:1) siehe S.36)
Laufhöhe: 10 cm
Laufzeit: 25 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
8-Methyl-rhein	0.32	hell blaurot
1-Methyl-rhein	0.36	dunkel orangerot
Rhein	0.48	ocker

C. Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-methyl-anthrachinon-mono- β -D-glucosid-(1) (Chrysophanol-1-glucosid) und Überführung in 1-Hydroxy-8-methoxy-anthrachinon-carbonsäure-(3) (8-Methyl-rhein)

1. Darstellung des Glucosids

a) Glucosidierung zu Chrysophanol- und Physcion-tetra-acetylglucosid-Gemisch

1.5 g des Chrysophanol-Physcion-Gemisches wurde in 15 ml Pyridin aufgeschlemmt und 0.9 g Silberoxyd zugesetzt. Zu der entstandenen tiefroten Lösung wurde 0.8 g geglähtes Magnesiumsulfat und 3.0 g α -Acetobrom-d-glucose gegeben und zwei Stunden auf dem Magnetrührer gerührt. Danach wurden nochmals 0.4 g Magnesiumsulfat und 0.6 g Acetobromglucose zugefügt. Dieser Zusatz wurde noch zwei weitere Male wiederholt und anschließend über Nacht stehengelassen. Die inzwischen dicklich gewordene Masse wurde in 200 ml mit Eisstücken gekühlte 10%ige Essigsäure eingerührt und absitzen gelassen. Der Niederschlag wurde abgenutscht, nochmals mit 10%iger Essigsäure nachgespült und mit Wasser säurefrei gewaschen. Nach Trocknen unter der IR-Lampe wurde in Chloroform aufgenommen, filtriert, etwas eingeeengt und mit Äther ausgefällt. Es entstanden 1.6 g eines gelben Kristallgemischs aus Chrysophanol- und Physcion-tetra-acetylglucosid.

b) Entacetylierung

Das rohe Tetraacetylglucosid-Gemisch wurde in 50 ml heißem Methanol gelöst und in der Siedehitze 8 ml einer 20%igen Natronlauge zugefügt. Nach einer Minute wurde abgekühlt und mit Essigsäure neutralisiert. Das dabei teilweise ausgefallene Glucosid wurde abgenutscht. Die zurückbleibende, noch glucosidhaltige Lösung wurde abgedampft, der Rückstand in heißem Wasser aufgenommen und mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Der daraus erhaltene Rückstand wurde gemeinsam mit dem abgenutschten Glucosid aus Methanol umkristallisiert. Es kristallisierten 1.1 g gelbe Nadeln des Glucosid-Gemisches aus, was einer Ausbeute von 45.8% entsprach.

c) Auftrennung der beiden Glucoside

Die Auftrennung erfolgte über eine Polyamid-Säule von 7.5 cm Durchmesser und 45 cm Füllhöhe mit reinem Methanol als Elutionsmittel. Die zuerst aufgefangenen, plattenchromatographisch geprüften reinen Fraktionen des Chrysophanol-Glucosids wurden eingengt und zweimal aus Methanol umkristallisiert. Es entstanden gelbe Kristallnadeln, die nach Trocknung unter der IR-Lampe einen Schmelzpunkt von $236 - 237^{\circ}$ zeigten.

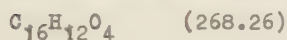
2. Methylierung und Verseifung zum 8-Methyl-chrysophanol

0.29 g Chrysophanol-Glucosid wurden fein verrieben, in 4.1 ml Wasser und 1.16 ml einer 10%igen Kalilauge aufgeschlemmt und unter Rühren auf dem Magnetrührer und Einhalten einer Temperatur zwischen $15 - 20^{\circ}$ mit 1.67 ml Dimethylsulfat versetzt. Nach ca. 20 Min. zeigte sich erstmals durch Farbänderung von rot nach rotgelb eine Änderung des pH-Wertes, was durch sofortige Zugabe von einem Tropfen einer 40%igen Kalilauge wieder rückgängig gemacht wurde. Dieser Vorgang wiederholte sich noch ungefähr 12 Mal. Die gesamte Reaktionszeit betrug 2.5 Std.. Danach war sämtliches Dimethylsulfat zersetzt und ein erneuter Zusatz ergab

keine weitere Umsetzung.

Zu dem Reaktionsgemisch wurden 13.4 ml 2.5 n Salzsäure gegeben, das Ganze kurz zum Sieden erhitzt, nach Ausflocken des Methyläthers die Mischung abgekühlt und mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Der zur Trockne eingedampfte Auszug wurde aus Methanol kristallisiert. Die zuerst erhaltenen Kristalle wurden zur Abtrennung von freiem Chrysophanol auf Kieselgelplatten aufgetragen, in einer Mischung Benzol/Methanol (9:1) entwickelt und die im UV-Licht intensiv orangerot fluoreszierende Monomethyläther-Zone ausgekratzt. Nach Elution mit Methanol wurde aus dem gleichen Lösungsmittel umkristallisiert und 0.074 g orangeroter Nadeln erhalten, was einer Ausbeute von 39.6% entsprach. Der Schmelzpunkt lag bei 198°.

Das aus der Mutterlauge erhaltene gelbe Kristallisat mit dem Schmelzpunkt von 175° konnte, da es sich um ein Isomeren-Gemisch handelte, nicht weiter verwertet werden.



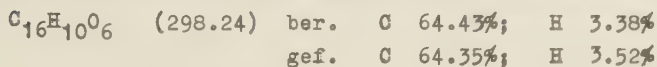
ber.	C	71.6 %;	H	4.51%
gef.	C	70.41%;	H	4.64%

3. Oxydation des 8-Methyl-chrysophanols zum 8-Methyl-rhein

Die Oxydation wurde nach vorangehender Acetylierung in gleicher Weise ausgeführt, wie bereits bei Aloe-emodin beschrieben.

0.069 g Methyl-chrysophanol wurden mit 3 ml Essigsäureanhydrid und zwei Tropfen Schwefelsäure 4 Std. stengelassen. Bereits nach kurzer Zeit war die Mischung erstarrt. Die Aufarbeitung erfolgte wie üblich.

0.074 g rohes Acetat wurden in 3 ml Essigsäureanhydrid gelöst und, wie unter B.3.b) beschrieben, mit 0.16 g Chromtrioxyd oxydiert. Nach Abspaltung der Acetyl-Gruppen kristallisierten aus essigsauerm Äthylacetat 9.3 mg roter Nadeln, die bei 313° schmolzen. Die Ausbeute betrug 12.13% d.Th.



4. Plattenchromatographische Überprüfung

Adsorbens: Polyamid
Fließmittel: Methanol
Laufhöhe: 10 cm
Laufzeit: 40 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
Phycion	0.28	ocker
Phycion-glucosid	0.46	orangerot
8-Methyl-chrysophanol	0.52	kräftig orangerot
Chrysophanol	0.54	ocker
Chrysophanol-1-glucosid	0.63	orangerot

Adsorbens: Kieselgel G Merck
Fließmittel: Benzol/Methanol (9:1)
Laufhöhe: 10 cm
Laufzeit: 25 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
8-Methyl-chrysophanol	0.88	kräftig orangerot
Chrysophanol	0.96	ocker

D. Darstellung des Emodin-1,6- oder 8,6-dimethyläther

1. Methylierung des Emodin-glucosids und anschließende Abspaltung des Zuckers

0.22 g Emodin-glucosid wurden mit 0.02 g Natriumhydroxyd in 2.7 ml Wasser gelöst und bei einer Temperatur von 55° mit 1 ml Dimethylsulfat versetzt. Unter dauerndem Schütteln wurden noch 7mal bei gleichbleibender Temperatur mit je einem Tropfen 40%iger wässriger Natronlauge versetzt, wenn die Reaktionsmischung ihre Farbe von rot nach gelb

veränderte. Die Methylierung dauerte eine Stunde. Anschließend wurde nach einstündigem Weitererhitzen auf dem Dampfbad das etwas eingedickte Gemisch in Aceton gelöst, während einer weiteren Stunde am Rückflußkühler mit 4 ml 9%iger Salzsäure hydrolysiert und nach Abkühlung mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Der Rückstand der am Rotationsverdampfer eingengten Extraktionslösung ergab 0.142 g eines Gemisches Physcion/Emodin-dimethyläther im Verhältnis von ca. 1:1. Dies entsprach einer Ausbeute von 95.8%, berechnet auf das mittlere Molekular-Gewicht beider Stoffe (Physcion: 284.26; Emodin-dimethyläther: 298.28; ergibt: 291.27).

2. Trennung von Physcion und Emodin-1,6- oder 8,6-dimethyläther

Der in Benzol aufgenommene Rückstand wurde über eine kurze Kieselgel-Säule von 3.5 cm Durchmesser und 7 cm Höhe aufgetrennt. Das entstandene Physcion wurde mit Benzol vollständig ausgewaschen und anschließend der auf der Säule haften gebliebene Emodin-dimethyläther mit Äthylacetat herausgelöst. Dieser wurde durch Umkristallisation aus Methanol gereinigt. Die orangeroten Nadeln schmolzen bei 193°. Die Ausbeute betrug 0.069 g, was 46.55% des obigen Gemisches entsprach. Die Verbrennungsanalyse ergab:

$C_{17}H_{14}O_5$ (298.28)

ber. C 68.45%; H 4.73%

gef. C 67.83%; H 4.81%

3. Plattenchromatographische Überprüfung

Adsorbens: Kieselgel G Merck
Fließmittel: Benzol
Laufhöhe: 10 cm
Laufzeit: 25 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
Emodin-1,6(8,6)-dimethyläther	0.09	gelbrot
Physcion	0.048	ocker
Emodin	0.0	ocker

E. Gewinnung von Aloe-emodin-8-glucosid und Emodin-glucosid
aus Folia Sennae

1. Mazeration der Droge

Zur möglichst weitgehenden Entfernung des Chlorophylls wurden 0.5 kg Fol. Sennae conc. ca. 10mal mit je 2 l Äther mazeriert, indem man unter zeitweiligem Rühren zwei Stunden stehen ließ. Der letzte Auszug erfolgte über Nacht. Danach war der Äther nur noch schwach grün gefärbt. Die feuchte Droge wurde nun zweimal mit je 2 l Chloroform nachgewaschen. Die vereinigten Auszüge, die neben Chlorophyll, Fett und Harz sehr viel freies Aloe-emodin und Rhein enthielten, wurden verworfen.

Die Hauptextraktion erfolgte mit Methanol unter 5%igem Wasser-Zusatz. Zum Schutz gegen evtl. Oxydation wurde wiederum in der Kälte extrahiert. Viermal wurde mit je 2 l Flüssigkeit während fünf Stunden mazeriert und jedes Mal mit 0.5 l nachgespült. Die vereinigten Auszüge wurden im Vakuum unter 35° bis zur sirupösen Konsistenz eingeengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und zur Entfernung des restlichen Chlorophylls dreimal mit 0.5 l Chloroform ausgeschüttelt.

2. Auftrennung des Extraktes

a) Ausschüttelung mit Äthylacetat und Äthylmethylketon

Die dunkelbraune wässrige Lösung wurde nun etwa 12mal mit je 300 ml Äthylacetat ausgeschüttelt, bis dieses nur noch hellgelb gefärbt war. Die vereinigten, auf ca. 50 ml im Vakuum eingeengten Auszüge enthielten zwei unbekannte,

im UV-Licht blau und grün fluoreszierende Stoffe, Aloe-emodin-glucosid, Emodin-glucosid, Rhein, sowie sehr wenig Kämpferolglycosid.

Um die in der wässrigen Lösung verbliebenen bedeutenden Mengen an Anthrachinon-glucosid noch zu gewinnen, wurde nun Äthylmethylketon eingesetzt. Mit ungefähr 7 Ausschüttelungen mit jeweils 300 ml Lösungsmittel konnten die Glucosid-Ausbeuten beträchtlich verbessert werden. In der zurückbleibenden Lösung waren anschließend nur noch unbedeutende Rest chromatographisch nachweisbar. Die eingeengten Extraktionslösungen enthielten sehr wenig der blau und grün fluoreszierenden Stoffe, dafür aber die Hauptmenge des Flavonglycosids, sowie Aloe-emodin-glucosid, Emodin-glucosid und Rhein. Wegen der etwas unterschiedlichen Zusammensetzung der Äthylacetat- und der Äthylmethylketon-Ausschüttelung wurden beide Extrakte getrennt, aber nach der gleichen Methode chromatographisch aufgearbeitet.

b) Auftrennung über eine Polyamid-Säule

Die Extrakte wurden auf eine mit Polyamid-Pulver gefüllten Säule von 4.5 cm Durchmesser und 40 cm Füllhöhe so aufgetragen, daß sie eine Zone von ungefähr 6 cm einnahmen. Als erstes Elutionsmittel diente ein 40% Alkohol enthaltendes Methanol/Wasser-Gemisch. Das Wandern der verschiedenen Substanzen wurde im UV-Licht beobachtet. Die zuerst wandernde Zone fluoreszierte blaugrün. Auf der Kieselgel-Platte trennte sich diese eingeengte Lösung in zwei direkt übereinander liegende Stoffe auf, von denen der eine blau, der andere grün fluoreszierte. Eine säulenchromatographische Trennung durch besseres Fraktionieren war nicht möglich.

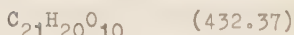
Nachdem die blaugrüne Zone vollständig ausgewaschen war, schloß sich sofort eine orangerot fluoreszierende Zone an. Durch die nun folgende Steigerung der Alkohol-Kon-

zentration auf 50%, wurde ein schnelleres Herauslösen bewirkt. Nach Abtropfen war nun als unterste Zone bei dem Äthylacetat-Auszug eine sehr schmale, bei dem Äthyl-Methylketon-Auszug eine breite, dunkle Front zu erkennen. Sie wurde mit 70%igem Methanol eluiert und das sie sich papierchromatographisch als Kämpferolglycosid erwies, verworfen. Die noch verbliebenen restlichen Stoffe zeigten sich dicht am Startpunkt als gelbe und direkt darunter als hellrote Zonen. Die unterste der beiden ließ sich mit reinem Methanol herauswaschen. Die obere haftete fest am Adsorbens. Da sich dünnschichtchromatographisch zeigte, daß diese aus Rhein bestand, konnte auf eine Aufarbeitung verzichtet werden. Die plattenchromatographisch geprüften, nur einen Stoff enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und im Vakuum eingeeengt.

c) Reinigung und Identifizierung von Aloe-emodin-8-glucosid

Der aus der Elution mit 50%igem Methanol erhaltene gelbe Rückstand wurde durch zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol gereinigt. Die gelben Kristalle zeigten einen Schmelzpunkt von 237.5° .

Plattenchromatographisch zeigte diese Substanz sowohl als Glucosid, als auch nach der Hydrolyse als Aglucon die gleichen R_f -Werte wie Aloe-emodin-8-glucosid, bzw. freies Aloe-emodin. Der Mischschmelzpunkt mit authentischem Glucosid ergab keine Depression. Das IR-Spektrum stimmte mit diesem exakt überein.



ber. C 58.33%; H 4.66%

gef. C 58.52%; H 4.82%

d) Reinigung und Identifizierung von Emodin-glucosid

Der Rückstand der mit reinem Methanol herausgelösten Fraktion wurde aus Methanol zweimal umkristallisiert. Die gelben Nadeln schmolzen bei 212° . Bei langsamen Weitererhitzen kristallisierte die Substanz in der

Schmelze aus und zersetzte sich bei $234 - 239^{\circ}$.

Der auf der Platte rot fluoreszierende Stoff lag auf gleicher Höhe wie Emodin-glucosid. Das ocker fluoreszierende Aglucon hatte den gleichen R_f -Wert wie Emodin. Das IR-Spektrum bewies die Identität mit dem genannten Glucosid.

Die Verbrennungsanalyse ergab:

$C_{21}H_{20}O_{10}$	(432.37)		
ber.	C	58.33%;	H 4.66%
gef.	C	58.18%;	H 4.88%

e) Isolierung der im UV-Licht blau fluoreszierenden Verbindung

Die mit 40%igem Methanol erhaltenen, im UV-Licht grün-blau fluoreszierenden Auszüge wurden im Vakuum zur Trockne eingedampft und der Rückstand in 40 ml Methanol aufgenommen. Nach dem Auftragen der Lösung auf Kieselgel-Platten und dem Entwickeln in Äthylacetat/Methanol/Wasser (100:16.5:12.5) bei einer Laufhöhe von 10 cm, wurde die im UV-Licht blau fluoreszierende Zone, die knapp über der grün fluoreszierenden lag, ausgekratzt und mit Methanol eluiert. Nach Einengen kristallisierte aus der Lösung grüngelbe, feinste Nadeln, die nach Umkristallisation aus Methanol bei $179 - 181^{\circ}$ schmolzen.

Die Ausbeute betrug 0.3 g.

3. Plattenchromatographische Überprüfung

a) Extrakt und isolierte Glucoside

Adsorbens:	Kieselgel G Merck
Fließmittel:	Äthylacetat/Methanol/Wasser (100:16.5:12.5)
Laufhöhe:	10 cm
Laufzeit:	30 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
Rhein	0.38	ocker
unbekannte Substanz	0.56	hellgrün
Aloe-emodin-8-glucosid	0.56	orangerot
unbekannte Substanz	0.61	blau
Emodin-glucosid	0.62	rot
Aloe-emodin	0.95	ocker

b) Aglucone

Adsorbens: Kieselgel G Merck
 Fließmittel: Di-isopropyläther
 Laufhöhe: 10 cm
 Laufzeit: 30 Min.

	Mittl. R_f -Werte	UV-Fluoreszenz
Rhein	0.05	ocker
Aloe-emodin	0.35	ocker
Emodin	0.55	ocker
Physcion	0.66	ocker
Chrysophanol	0.79	ocker

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) O.A.OESTERLE, Arch.Pharm. 249, 445 (1911)
- 2) P.C.MITTER, D.BANERJEE, J.Indian chem.Soc. 9, 375 (1932)
- 3) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER, H.J.LEUE, Dtsch.Apoth.-Ztg. 99, Nr. 41 (1959)
- 4) A.STOLL, B.BECKER, Recueil Trav.chim.Pays-Bas 69, 558 (1950)
- 5) A.C.BELLAART, C.KONINGSBERGER, Recueil Trav.chim.Pays-Bas 79, 285 (1960)
- 6) R.S.CAHN, J.L.SIMONSEN, J.chem.Soc.(London) 2573 (1932)
- 7) A.STOLL, B.BECKER, W.KUSSMAUL, Helv.chim.Acta 32, 1892 (1949)
- 8) H.AUTERHOFF, B.BALL, Arzneimittel-Forsch. 4, 725 (1954)
- 9) W.AWE, H.J.KÜMMEL, Scientia pharmac. 31, 148 (1963)
- 10) E.FISCHER, E.F.ARMSTRONG, B.dtsch.chem.Ges. 34, 2885 (1901)
- 11) R.TAKAHASHI, J.pharmac.Soc., Japan 525, 969 (1925)
- 12) S.FUJISE, S.MITUI, B. 71, 922 (1938)
- 13) H.MÜHLEMAN, Pharmac.Acta Helv. 24, 315 (1949)
- 14) S.IMRE, Dissertation München (1962)
- 15) M.UCHIBAYASHI, T.MATSUOKA, Chem.pharmac.Bull.Tokio 9, 234 (1961); ref. C., I., 1215 (1962)
- 16) O.FISCHER, F.FALCO, H.GROSS, J.prakt.Chem. 83, 208 (1911); ref.C., I., 1135 (1911)
- 17) R.EDER, C.WIDMER, Helv.chim.Acta 5, 3 (1922)
- 18) E.GILSON, Arch.int.Pharmacodynam.Therap. 14, 453 (1905)
- 19) H.FOSTER, H.H.GARDNER, J.Amer.chem.Soc. 58, 597 (1936)
- 20) A.STOLL, B.BECKER, Recueil Trav.chim.Pays-Bas 69, 553 (1950)
- 21) CH.A.NAYLOR, J.H.GARDNER, J.Amer.chem.Soc. 53, 4111 (1931)
- 22) A.C.BELLAART, Pharmac.Weekbl. 97, 105 (1962)
- 23) R.EDER, C.WIDMER, Helv.chim.Acta 6, 966 (1923)
- 24) R.EDER, F.HAUSER, Helv.chim.Acta 8, 140 (1925)
- 25) J.J.HOLMSTRÖM, Schweiz.Apotheker-Ztg. 59, 160 (1921)
- 26) F.TUTIN, J.chem.Soc.(London) 103, 2006 (1913)
- 27) J.K.CRELLIN, J.W.FAIRBAIN, C.A.FRIEDMANN, H.A.RYAN, J.Pharmacy Pharmacol. 13, 639 (1961)
- 28) J.W.FAIRBAIN, C.A.FRIEDMANN, H.A.RYAN, J.Pharmacy Pharmacol. 10, 186 T (1958)
- 29) R.DEQUEKER, Dtsch.Apoth.-Ztg. 103, Nr. 43 (1963)
- 30) H.RÜSLER, Dissertation München (1959)
- 31) M.BARCZAL-MATOS, F.KÖROSY, Nature (London) 165, 369 (1950)

LEBENS LAUF

Am 6.8.1938 wurde ich, Edith Müller, als Tochter des Kaufmanns Heinz Müller und seiner Ehefrau Li, geb. Staudt, in Mainz geboren.

Dort besuchte ich von 1944 bis 1947 die Volksschule, anschließend die Maria Ward-Schule, ein Neusprachliches-Gymnasium, wo ich im Februar 1956 die Reifeprüfung ablegte.

Nach 2-jähriger Praktikantenzeit in der Hirsch-Apotheke in Wiesbaden studierte ich bis Frühjahr 1961 Pharmazie in Mainz und Zürich.

Seit dem 15. November 1961 bin ich am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München unter Leitung von Herrn Professor Dr. L. Hörhammer mit der vorliegenden Dissertation beschäftigt.

